

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DES ALCALOIDES SUR LES BACTÉRIES

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de
Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)

présentée et soutenue le 6 Février 1953
par

Jacqueline BERNARD

Pharmacien de la Faculté de Paris

Diplômée de Sérologie

Diplômée d'Optique et d'Acoustique

JURY	{	M ^{lle} LAMBIN	{	Président
		M. PARIS		Examineurs
		M. GERMAN		

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ACTION DES ALCALOIDES SUR LES BACTÉRIES

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de
Docteur de l'Université de Paris (Pharmacie)

présentée et soutenue le 6 Février 1953
par

Jacqueline BERNARD

Pharmacien de la Faculté de Paris
Diplomée de Sérologie
Diplomée d'Optique et d'Acoustique

JURY	{	M ^{lle} LAMBIN	{	Président
		M. PARIS		Examineurs
		M. GERMAN		



PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION :

M. René FABRE, Doyen, C. ✱, ☉ I. M. DELABY, Assesseur, O. ✱, ☉ I.
M. G. CUVIER, Secrétaire Général, ☉ I.
MM. L. JEANDEL, Secrétaire, ☉ I. M. E. BUVAT, Commis, ☉ A.
A. QUILLIOT, Rédacteur. M^{lle} M. DENNY, Commis.
M^{me} M.-L. ESPINASSE, Rédactrice, ☉ A.

PROFESSEURS :

MM. FABRE, C. ✱, ☉ I.	Toxicologie.
DELABY, O. ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
PICON, ✱, ☉ I.	Chimie minérale.
MASCRE, ✱, ☉ I.	Botanique.
FLEURY, ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
JANOT, ✱, ☉ I.	Pharmacie galénique.
CHARONNAT, ✱, ☉ I.	Chimie organique.
VALETTE, ✱, ☉ I.	Zoologie appliquée.
BEDEL, ✱, ☉ I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
PARIS, ☉ A.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
GUILLOT, ☉ A.	Physique.
GAUTIER, ☉ I.	Chimie analytique.
LAMBIN (M ^{lle}) ☉ I.	Microbiologie.
RAOUL, ☉ A.	} Professeurs sans chaire.
DOMANGE, ☉ I.	
CRÊTE, ☉ A.	
COURTOIS, ✱, ☉ A.	

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. ✱, ☉ I.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DELEPINE C. ✱, ☉ I. et LEBEAU, C. ✱, ☉ I., Membres de l'Institut.
BOUGAULT, C. ✱, ☉ I., HERISSEY, O. ✱, ☉ I., LAUNOY, O. ✱, ☉ I.

MAITRES DE CONFERENCES :

MM. MORETTE, ✱, ☉ A.	Sciences physiques et chimiques.
CAVIER, ☉ A.	Sciences naturelles.
TRUHAUT, ✱, ☉ I.	Sciences physiques et chimiques.
MOREAU, ☉ A.	Sciences physiques et chimiques.
GUY	Sciences physiques et chimiques.
GERMAN, ☉ A.	Sciences naturelles.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES :

MM. CORRIEZ, ☉ I.	Physique.
HARISPE, ☉ A., travaux pratiques première année	Chimie générale et pharmaceutique.
DEYSSON	Botanique.
GIRARD, ☉ A.	Chimie biologique.
MANGEOT, ☉ A.	T.P. quatrième année.
PIETTE, ☉ A.	Biologie animale.
RENAULT H.	Chimie analytique.
N.	Microbiologie.

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

MM. GOUTAREL	Pharmacotechnie galénique.
QUEVAUVILLER, ☉ A.	Pharmacodynamie.
WAROLIN	Pharmacotechnie chimique.
Bibliothécaire en chef	M. GARNIER, ✱, ☉ I.
Bibliothécaires	M ^{lle} LAVAUD, ☉ I.
	M ^{me} KREHMER.

A MES PARENTS,

A MA FAMILLE,

A MES AMIS,

A LA MEMOIRE DE MONSIEUR LE DOYEN SARTORY



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552428_0049

A MADemoisELLE LE PROFESSEUR LAMBIN

En témoignage de notre très vive reconnaissance
et de notre respectueux attachement

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PARIS

A MONSIEUR GERMAN,
maître de conférences,

qui nous ont fait l'honneur de faire
partie du jury de cette thèse,

en temoignage de respectueuse gratitude

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTION DES ALCALOÏDES SUR LES BACTERIES

Un produit chimique peut agir de différentes façons sur les bactéries : il peut, selon la dose employée, exercer une action néfaste qui se traduit par un effet bactériostatique ou antigénétique, c'est-à-dire par un ralentissement ou même un arrêt total de la multiplication microbienne; ou un effet bactéricide, c'est-à-dire une inhibition définitive de la vitalité bactérienne ; mais il peut aussi, parfois, exercer à très faible concentration, un effet favorable sur la croissance des bactéries. Enfin il peut encore, sans arrêter la multiplication, modifier la morphologie des germes qui prennent alors des formes anormales ou acquièrent des propriétés tinctoriales nouvelles.

Désirant pour notre part étudier le comportement des bactéries à l'égard des substances alcaloïdiques, nous avons envisagé ces différentes modalités d'action, cependant nous avons retenu plus particulièrement l'action bactériostatique ou antigénétique, en raison de la faible activité bactéricide de ces substances.

Après avoir rappelé dans une introduction, les travaux déjà effectués sur la question, nous exposerons nos travaux personnels, en adoptant l'ordre suivant :

Dans une première partie nous nous occuperons de l'action antigénétique ou bactériostatique des alcaloïdes. Nous indiquerons d'abord les différentes méthodes que nous avons utilisées et l'influence des différents facteurs sur les résultats qu'elles fournissent. Nous insisterons ensuite sur les conditions que nous avons adoptées pour nos essais. Enfin nous donnerons les résultats obtenus pour chaque alcaloïde, puis pour chaque bactérie mise en expérience.

Nous avons réservé une place à part à l'étude de l'action antigénétique vis-à-vis du Bacille tuberculeux pour laquelle nous indiquerons la méthode d'étude utilisée et les résultats obtenus avec quelques alcaloïdes.

Dans une seconde partie nous rapporterons nos recherches sur les autres modes d'action des produits alcaloïdiques sur les bactéries, nous envisagerons successivement :

l'action bactéricide, nous dirons les raisons qui nous ont déterminée à ne pas poursuivre cette recherche et nous indiquerons les quelques résultats que nous avons pu obtenir ;

l'action stimulante, nous rapporterons nos recherches d'une éventuelle action stimulante des alcaloïdes sur la multiplication du Staphylocoque ;

l'action sur la morphologie, nous indiquerons brièvement les observations que nous avons faites sur la morphologie de quelques

espèces bactériennes se développant en présence d'alcaloïde.

Enfin nous indiquerons les conclusions que nous pouvons tirer de nos travaux.

Avant d'en entreprendre l'exposé qu'il nous soit permis de rappeler ici la mémoire de Monsieur le Doyen SARTORY, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire et dont la disparition prématurée nous a profondément peinée.

Nous sommes heureuse de pouvoir exprimer à Mademoiselle le Professeur LAMBIN notre profonde reconnaissance pour la bienveillante sollicitude qu'elle n'a jamais cessé de nous témoigner. Les conseils qu'elle a bien voulu nous prodiguer, au cours des recherches qu'elle nous a proposées et lors de la rédaction finale de ce travail, nous ont permis de mener celui-ci à bonne fin. Qu'elle veuille bien trouver ici les marques de toute notre déférente gratitude. Nous tenons à la remercier aussi tout particulièrement de nous avoir accueillie comme monitrice aux Travaux pratiques de Microbiologie et de nous avoir apporté de maintes façons une aide précieuse, nous permettant de continuer nos études vers la recherche.

Nos remerciements iront ensuite à Monsieur le Professeur PARIS, qui, en nous procurant, aux dépens de sa propre collection, la plupart des alcaloïdes nécessaires à notre étude, nous a permis de donner un intérêt plus actuel à notre travail. Il nous a fait le grand honneur de bien vouloir faire partie du Jury de cette thèse ; qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de nos respectueux remerciements.

C'est à Monsieur GERMAN, maître de conférences, que va ensuite notre gratitude pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée en maintes circonstances dans notre travail et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie du Jury de cette thèse.

Il nous reste à exprimer nos remerciements à Madame MOYSE, Assistante au Laboratoire de Matière médicale, pour son accueil toujours si aimable.

Nous remercions également tous nos Amis du Laboratoire de Microbiologie, pour l'aide si dévouée que leur sympathie nous a apportée et, en particulier, Monsieur DESVIGNES, Assistant, dont les conseils si judicieux ont guidé nos débuts dans la recherche.

Nous remercions enfin :

Les Laboratoires HOUDE, qui nous ont fait parvenir un certain nombre de produits alcaloïdiques et en particulier des granules de chelidonine dont nous avons pu extraire nous-même l'alcaloïde ;

Les Etablissements BOYER et Cie, qui nous ont également assuré la fourniture de quelques alcaloïdes.

Ainsi que les Etablissements PENICK et Cie, qui ont pris soin de nous faire parvenir de New-York le nitrate de sanguinarine nécessaire à nos essais.

I N T R O D U C T I O N

L'étude de l'action des alcaloïdes sur les bactéries a été envisagée par de nombreux auteurs ; la toxicité de ces produits pour la cellule animale incita les auteurs à rechercher leur action sur les cellules microbiennes ; malheureusement les conditions exactes de leurs essais ne sont pas toujours précisées de façon suffisante.

Il faut remonter à 1892 pour trouver les premières traces de l'étude de ces substances. LUBBERT (36) étudie alors l'action antiseptique de certains alcaloïdes sur le Staphylocoque, il trouve pour le chlorhydrate de quinine une action bactériostatique à une concentration de 1 g. pour 530 cm³, et pour le chlorhydrate de morphine 1 g. pour 50 cm³.

J. GRASSET (20) indique que la cocaïne aurait une action antiseptique "faible" arrêtant la fermentation.

Cependant d'autres auteurs prétendent que les alcaloïdes n'ont pas ou peu d'influence sur la croissance des bactéries. Dans une thèse soutenue à Montpellier, E. BRIGANDAT (7) expose ses recherches sur la conservation des solutions d'atropine. Il observe des cultures de champignons et de bactéries dans ces solutions et en déduit que l'atropine n'a pas d'action stérilisante par elle-même.

W.S. SSADIKOW (49), en 1912, étudie l'action du sulfate de strychnine en solution à 1%, les microorganismes se développent. Il étudie le Staphylocoque, le Bacille subtilis, le Bacille mesentericus, le Colibacille, le Bacille typhique, le Prodigiosus et le Bacille proteus. Le Staphylocoque et les moisissures seules poussent sur un milieu gélosé strychniné à 2%. 0,5 % de phosphate de strychnine n'entrave le développement d'aucune des bactéries indiquées ci-dessus. L'auteur observe d'autre part des différenciations biologiques, ainsi presque toutes les bactéries pigmentées cultivées sur gélose à 5 % de phosphate de strychnine perdent leur possibilité de produire du pigment et ne montrent qu'après quelques générations leur puissance de coloration habituelle.

Cette action de la strychnine sur les bactéries apparaît si essentielle à SSADIKOW qu'il propose une classification des microbes d'après leur comportement vis-à-vis de cet alcaloïde :

Polystrychnobiens, qui supportent une concentration supérieure à 2 %.- Mesostrychnobiens qui résistent à une concentration entre 0,5 et 0,9 %.- Oligostrychnobiens qui ne vivent qu'à une concentration inférieure à 0,5 %.- L'auteur a recherché en vain une bactérie qu'il se proposait d'appeler Astrychnobien, qui, parcelllement aux animaux supérieurs, serait empoisonnée avec de très petites quantités de strychnine.

En 1912 O.H. BROWN (8) étudie l'action antiseptique de la quinine et de ses sels : citrate et salicylate sur le Pneumocoque : la quinine, dit l'auteur, est plus antiseptique que ses sels. Une solution à 0,1% de

quinine tue le Pneumocoque en un temps allant de 20 minutes à 4 ou 5 heures. La quinine détruit aussi les Streptocoques et les Staphylocoques, mais en un temps beaucoup plus long encore.

J. MORGENROTH et I. TUGENDREICH (38), en 1917, étudient l'action désinfectante des alcaloïdes de la quinine sur les Streptocoques. Parmi les dérivés de la quinine, ceux qui sont les plus riches en atomes de carbone, sont les moins actifs sur les Pneumocoques et, au contraire, les plus actifs sur les Streptocoques. Les auteurs pensent même que l'optochine pourrait être utilisée pour faire le diagnostic différentiel entre le Pneumocoque et le Streptocoque.

En 1917 A. LOESER (35) étudie l'action de certains dérivés de la quinine sur les bacilles du Rouget du porc. Le chlorhydrate de quinine, l'hydroquinone, l'éthylcupréine et l'isopropylhydrocupréine sont mis pendant quelque temps en contact, à des dilutions variables, avec une émulsion de bacilles. Ces derniers sont ensuite injectés à des souris en même temps que l'on injecte à d'autres des bacilles témoins n'ayant pas subi l'action des dérivés de la quinine. Les souris inoculées ont une survie de 2 à 3 jours sur les témoins. L'auteur a observé que si l'on injecte simultanément des microbes et le produit quinqué dans la cavité péritonéale de la souris on n'observe aucun effet, les animaux meurent aussi vite que les témoins. De tous les produits étudiés par A. LOESER le plus actif est l'optochine ou éthylcupréine, viennent ensuite l'isopropylhydrocupréine, l'hydroquinone et la quinine. L'auteur a remplacé l'eau de ces émulsions par du sérum de chèvre, l'effet des alcaloïdes s'en trouve fortement diminué.

Dans leur "Manuel des antiseptiques" H. DAKIN et E. DUNHAM (12) notent que la possibilité pour un antiseptique de tuer les microorganismes dépend dans une large mesure des conditions dans lesquelles il agit. L'action désinfectante est plus importante quand la substance agit sur des bactéries débarrassées des souillures provenant du milieu de culture et en suspension dans l'eau distillée ou une solution salée. Les auteurs rappellent que le chlorhydrate de quinine qui a été recommandé par Kenneth TAYLOR, en 1915, pour le pansement des plaies septiques et spécialement de celles infectées par Bacillus aerogenes capsulatus, est employé à une dilution de 1 pour 1000 dans de l'eau additionnée de 0,1 pour 100 de ClH ou de 1 pour 100 d'alcool, pour empêcher la précipitation de l'alcaloïde. Cette solution est 10 fois plus active que le phénol contre les agents des infections gazeuses. Les auteurs rappellent le fait curieux noté par K. TAYLOR : alors que la quinine entrave fortement le développement des infections à Bacillus aerogenes capsulatus, elle semble activer les infections à Bacillus pyocyanus. Les essais de laboratoire ont montré, en effet, que ces derniers germes sont parmi les bactéries pyogènes communes les plus résistantes à la quinine.

En 1918 R. BIELING (4) détermine l'action stérilisante de la quinine et de deux de ses dérivés : eucupine et isoéthylhydrocupréine sur les différents bacilles pathogènes ; les bacilles diphtérique, tétanique, et le bacille du Charbon sont sensibles, tandis que les bacilles typhique, paratyphiques, coli, pyocyanique, le bacille de Friedlander et le bacille de Pfeiffer supportent très bien des doses de 1 pour 1000 de ces produits. L'existence des spores ne paraît avoir qu'une influence insignifiante.

R.DURAND (16), dans sa thèse soutenue à NANCY en 1919, étudiant l'action des médicaments antiseptiques sur les bactéries, détermine la durée de vie de certaines bactéries incorporées à l'antiseptique à l'état sec. Il emploie pour cette détermination des bouillons de culture datant de 3 mois de Bacille anthracis, Bacille pyocyanique et de Colibacille. D'après cet auteur le Bacille anthracis résiste plus d'un mois au chlorhydrate de cocaïne tandis que le Bacille pyocyanique et le Colibacille ne résistent pas 24 heures.

Bacillus anthracis résiste plus d'un mois au chlorhydrate de morphine tandis que le bacille pyocyanique ne résiste que 10 jours et le Colibacille 5 jours seulement.

L'auteur a, d'autre part, dénombré les germes dans des prélèvements d'origines différentes. Les stocks de chlorhydrate de morphine se sont montrés très peu contaminés tandis que ceux de chlorhydrate de cocaïne se sont toujours montrés stériles, la vie des microorganismes paraît impossible à sec au contact de cet alcaloïde.

G.ZIRPOLO (61), en 1920, observe l'influence de différentes dilutions de morphine sur les bactéries lumineuses.

H.J.CORPER, H.GAUSS et O.B.REUSCH (11) ont étudié, en 1921-22, l'action de la morphine dans la tuberculose expérimentale. En conclusion de leur étude les auteurs déclarent que de petites quantités de sulfate de morphine (8mgr) administrées avant et pendant la première partie de l'infection, ont une action légèrement inhibitrice sur le développement de la tuberculose chez le cobaye, tandis qu'un traitement prolongé excédant 5 semaines depuis le jour de l'infection a un effet minime ou nul.

En 1923, W.KOLLE et H.SCHLOSSBERGER (27) essaient l'action de différents produits et, en particulier, de la quinine sur les souris infectées par la tuberculose aviaire souche N°13 de KOLLE et SCHLOSSBERGER, l'alcaloïde s'est trouvé dépourvu de toute activité.

L. KARWACKI et S.BIERNACKI (25) reprennent, en 1925, l'étude de quelques substances chimiques sur le développement du bacille de Koch ayant subi plus de 300 ensemencements, la culture portant le nom de 801 est tellement habituée à la vie saprophytique que le voile sur le bouillon commence à apparaître à l'étuve entre le 2^e et le 3^e jour. L'acido-résistance et la morphologie de ce bacille sont restés intacts, mais leurs propriétés pathogènes ont complètement disparu. Les auteurs ont opéré en bouillon glyciné à 4% légèrement alcalin, auquel ils ont ajouté les produits chimiques et ensemencé avec une goutte de culture tuberculeuse. Parmi les corps étudiés se trouvent quelques alcaloïdes. Le chlorhydrate de morphine, le chlorhydrate de pilocarpine, le chlorhydrate de cocaïne, le sulfate d'atropine, le nitrate de strychnine, ne possèdent pas d'action inhibitrice. Seuls le chlorhydrate de quinine et la vératrine exercent une action bactériostatique, le premier à 0,4 %, le deuxième à 0,8 %.

En 1927 O.STICKL (50) étudie l'action bactériostatique des extraits de chélidoine (*chélidonium majus*) sur les microbes pathogènes. Cette Papavéracée utilisée depuis fort longtemps pour le traitement des abcès, des tumeurs et des verrues, montre une action bactéricide faible ou

nulle vis-à-vis des bactéries à gram négatif. Un extrait commercial de cette plante s'est par contre montré actif sur le Staphylocoque et la Bactérie charbonneuse. L'auteur a également étudié le pouvoir bactéricide de diverses fractions extraites de la Chélidoïne (lipoides, résines, huiles éthérées, terpènes, acides gras volatils et alcaloïdes). Plusieurs alcaloïdes sous la forme de sels neutres et de chloraurates exercent un pouvoir bactéricide manifeste vis-à-vis des deux espèces microbiennes examinées : chélidonine, chélidoxanthine et, plus particulièrement, chélérythrine et sanguinaline. O.STICKL conclut en disant que l'étude bactériologique des alcaloïdes en général, étude alors peu développée, peut amener la découverte de faits intéressants.

A la même époque, deux auteurs A. HAIM et TORRES (21) reprennent l'étude de l'action des alcaloïdes sur les bactéries. Ecartant volontairement la quinine et les alcaloïdes voisins, ils étudient l'action de l'atropine, de la dionine, de la morphine, de l'héroïne, de la caféine, de la cocaïne, de la scopolamine et de l'aconitine sur divers germes : Bacille mesentericus, Sarcines, Bacilles pseudotuberculeux, Bacille typhique, Staphylocoque, Bacille proteus, Bacille subtilis, Bacille mycoides, Bacille pyocyanique et Streptocoques. Ces auteurs ont employé, pour cette étude, diverses méthodes. Ils examinèrent successivement la croissance des bactéries sur gélose contenant les alcaloïdes par ensemencement à la surface de la gélose et par le procédé de culture en plaques de NEISSER et WECHSBERG. D'autre part ils étudièrent la croissance des bactéries sur bouillon renfermant l'alcaloïde, soit en ensemençant directement les bactéries sur le bouillon renfermant le produit étudié, soit en ensemençant ces germes dans les produits alcaloïdiques et en ajoutant ultérieurement le bouillon. En conclusion de cette étude et malgré les très grands écarts observés pour les doses bactériostatiques non seulement dans le cas d'un alcaloïde agissant sur des espèces différentes, mais aussi d'une expérience à l'autre pour une seule et même espèce, les auteurs croient pouvoir conclure que d'une façon générale l'action de certains alcaloïdes sur les bactéries est plus prononcée qu'on ne l'admet d'habitude.

Peu de temps après, en 1930, V.SOITUZ (48) reprend cette étude, il examine successivement l'action de l'atropine, de la cocaïne, de la morphine, de l'émétine et de la strychnine sur le développement d'un certain nombre de germes (B.anthraxis, Staphylocoque, B.anthracoïdes, B.megatherium, B.mesentericus, B.subtilis, B.mycoides, Bacille du choléra des poules, Bacille du rouget du porc, Bacille typhique et paratyphiques A et B, B.suipestifer, Colibacille, B.sanguinarium, B.pullorum, B.lactis aerogenes, B.fecalis alcaligenes, B.proteus vulgaris, Bacilles de Shiga, de Flexner et Bacille pyocyanique) en employant les alcaloïdes sous forme de sulfates neutres pour l'atropine et la strychnine et de chlorhydrates pour la cocaïne, l'émétine et la morphine. SOITUZ a constaté que les bactéries sont peu sensibles à l'action des alcaloïdes, alors que, sous leur influence, la réaction du milieu n'est pas modifiée. L'action stérilisante des alcaloïdes n'apparaît que pour des solutions très concentrées et il ne faut pas alors négliger, dit l'auteur, la qualité acide de ces solutions et la nature du métalloïde.

Le même auteur a étudié les modifications pouvant apparaître dans la morphologie et les propriétés biologiques des bactéries. Ces modifi-

cations consistent en l'apparition de cultures tardives parfois agglutinées, en l'absence ou l'apparition tardive de voile ou de pigment, en un ralentissement de la mobilité, etc... Aucune différence d'action sur les sucres n'a été observée.

Parmi les alcaloïdes étudiés par l'auteur seule l'émétine possède une action bactériostatique assez nette sur certaines bactéries (Bacille du rouget du porc, B.mesentericus, B.lactis aerogenes, Bacille du choléra des poules) et une action très faible vis-à-vis de quelques autres. L'action assez importante de l'émétine sur le Bacille du choléra des poules et l'indifférence à cette substance du Bacille de la typhose aviaire, peut servir pour différencier rapidement les germes responsables de chacune de ces deux septicémies dont le diagnostic différentiel rapide est souvent assez délicat. Comme les Bacilles de la typhose aviaire et de la diarrhée blanche des poussins se développent bien dans des milieux contenant 1 pour 100 de chlorhydrate d'émétine en précipitant l'alcaloïde, tandis que la Pasteurella aviaire ne pousse jamais dans du bouillon contenant 1 pour 800 de cet alcaloïde, par un simple ensemencement dans un milieu contenant 1 à 2 pour 100 d'émétine, on peut confirmer ou exclure l'existence du choléra aviaire en 24 heures.

Déjà depuis E. ROTH (43) et F.KLOUMANN (26) la caféine est employée dans ce sens. Son action sur les bactéries est en général réduite, cependant ces auteurs ont montré que le développement du Colibacille est fortement inhibé en présence de fortes concentrations de caféine, tandis que le Bacille typhique est peu ou pas du tout influencé.

V. SOITUZ (48), au cours de ses expériences, a observé que le développement de certains microbes en présence d'alcaloïde (chlorhydrate d'émétine ou sulfate de strychnine) trouble le milieu de culture beaucoup plus intensément qu'en l'absence d'alcaloïde. L'auteur constate que ce phénomène s'explique simplement par une précipitation de l'alcaloïde, due à l'alcalinisation du milieu. SOITUZ détermine alors le pH qui correspond à un commencement de précipitation, dans un bouillon additionné de 1 pour 100 d'alcaloïde en alcalinisant progressivement celui-ci par de petites quantités de soude. L'auteur a pu remarquer que certaines bactéries qui alcalinisent fortement le milieu, sont capables de débarrasser celui-ci d'une partie de l'alcaloïde dissout, par la précipitation, que cette alcalinisation entraîne.

A.J.LEVY (33), en 1931, étudie l'effet de la quinine sur le bacille tuberculeux ; le développement du bacille de Kock humain sur gélose glycinée est inhibé par le chlorhydrate de quinine dissous dans ce milieu à la dose minimum de 1 pour 50.000. Une solution de quinine à 1 pour 500 tue le bacille de Koch en 120 minutes. Après 20 minutes de contact elle n'exerce qu'une action bactériostatique. L'auteur a tenté d'atténuer ce bacille par l'alcaloïde et chercha à traiter des cobayes tuberculeux, mais les résultats sont peu démonstratifs.

La même année T.H.AMAKO (1) signale l'influence des alcaloïdes sur les manifestations vitales du Bacille pyocyanique ; l'auteur étudie successivement l'atropine, la cocaïne, la morphine, la nicotine, la physostigmine, la pilocarpine et la strychnine.

En 1932 A.LODE et A.HOWARD (34), étudiant l'action inhibitrice des narcotiques sur le pouvoir envahissant de B. proteus, montrent l'action peu intense de la morphine.

En 1934, J.P.TODD et H.L.SMITH (52) étudient l'action bactéricide de quelques médicaments communs, entre autres le chlorhydrate de strychnine et le chlorhydrate de cocaïne. Ils concluent que dans les conditions courantes ces produits ne sont pas contaminés, tandis que le glucose et la gomme arabique se sont montrés souillés de bactéries. Les auteurs ayant mis en présence une suspension de bacilles et certains sels, puis desséché le tout dans un dessiccateur, concluent que les organismes non sporulés S.lutea et St.aureus ne survivent pas à l'action du sulfate d'atropine, du chlorhydrate de quinine et du chlorhydrate de strychnine, tandis que les organismes sporulés survivent.

H.DAVIS (13), en 1935, dans un travail sur la tyndallisation, étudie la préparation des solutions stériles. Parmi les trente-deux substances mises en expérience, il étudie quatorze alcaloïdes employés, souvent, sous forme de solutés injectables. L'auteur prépare les solutions avec de l'eau distillée stérile, dans des récipients stériles, l'alcaloïde étant prélevé dans un stock ordinaire avec une spatule stérile. L'observation est faite, après incubation d'une semaine, en ensemençant en bouillon et sur gélose. De toutes les substances examinées par l'auteur ce sont surtout les alcaloïdes qui se sont montrés non contaminés ; sur quatorze alcaloïdes, seul le nitrate de pilocarpine s'est montré contaminé par un champignon qui a poussé sur gélose. H.DAVIS a par ailleurs préparé des solutions avec les mêmes substances en eau non stérile et en récipients stériles. Certains de ces corps se sont conservés sans contamination sans avoir été chauffés. Parmi les solutions d'alcaloïdes, aucune ne renfermait de bactéries anaérobies, le chlorhydrate d'apomorphine, le salicylate d'ésérine, le chlorhydrate d'éphédrine, le chlorhydrate de strychnine, le nitrate de pilocarpine se sont montrés stériles. Le chlorhydrate d'émétine, le tartrate de morphine et le chlorhydrate d'éthylmorphine ont donné des résultats douteux. Le sulfate d'atropine, le chlorhydrate de cocaïne, le phosphate de codéine, le bromhydrate d'hyosciamine se sont montrés contaminés par des bactéries aérobies.

J.TISSEUIL (51) signale, en 1937, quatre observations sur l'action favorable de l'yohimbine sur la laryngite des lépreux.

En 1938 E.JENSEN (22) fait des recherches sur la flore bactérienne de quelques produits chimiques employés dans la préparation de solutés injectables stériles. Cette étude a porté sur vingt substances chimiques qui ne supportent pas la stérilisation par la chaleur et sont administrées en injection dans la médecine courante et parmi lesquels se trouvaient trois alcaloïdes : le sulfate d'atropine, le chlorhydrate de cocaïne et de morphine. L'auteur signale la présence des bacilles du groupe de B.subtilis et de B.megatherium et l'absence de bactéries pathogènes.

En 1938 B.VAINBERG et V.KRASNOGOLOVEZ (56) reprennent l'étude de l'action des alcaloïdes sur les bactéries et étudient successivement le sulfate d'atropine, le chlorhydrate de morphine, la quinine, la cocaïne et le nitrate de strychnine sur différents bacilles : Bacille typhique,

Bacille de Breslau, Streptocoques et Bacille pyocyanique, cultivés en bouillon de viande additionné de peptone. C'est la quinine qui s'est avérée comme la plus toxique, viennent ensuite la morphine, la strychnine, l'atropine et la cocaïne. Ce sont les Bacilles typhiques qui se sont montrés les plus sensibles à l'action de ces divers alcaloïdes, viennent ensuite le Bacille de Breslau, le Streptocoque et le Bacille pyocyanique.

F.OBATON (41) signale, l'année suivante, que la colchicine provoque une accélération du développement des bactéries lumineuses cultivées sur milieu solide ou liquide.

E.BONETTI et A.ILLENYI (6), la même année, reprennent l'étude de la colchicine et montrent que cet alcaloïde diminue le métabolisme gazeux de B.prodigosus à de faibles concentrations ; à des concentrations plus grandes elle n'agit pas, à des concentrations plus grandes encore, elle diminue à nouveau. Ceci s'expliquerait, d'après les auteurs, par le fait que les bactéries ne présentent pas de mitose.

M.MORIN (39) signale, en 1944, un état infectieux grave et prolongé d'origine indéterminée guéri par la quinine.

P.BERNOULLI (3), en 1944, recherche le mécanisme de l'action de l'émétine sur les affections bactériennes. L'auteur montre qu'à une dilution moléculaire de 0,005 à 0,0005 cet alcaloïde inhibe la croissance des bactéries avec de légères différences suivant l'espèce bactérienne et le milieu de culture. Aux dilutions plus faibles, mais encore actives, elle inhibe nettement la respiration bactérienne. L'auteur montre encore que l'acide paraaminobenzoïque n'exerce aucun effet antagoniste. L'auteur en conclut que l'action de l'émétine étudiée sur des souches de Staphylocoques, de Streptocoques et de Pneumocoques, de Colibacille et de Bacille de Koch, se traduit par une longue phase bactériostatique.

En 1945 F.H.JOHNSON et I.LEWIN (23) précisent les doses stérilisantes de la quinine sur le Colibacille en milieu synthétique et montrent que cette action est supprimée par des substances antagonistes : la riboflavine et la cozymase. La croissance étant appréciée par la progression du nombre des cellules vivantes, l'auteur montre qu'une concentration moléculaire de 0,00073 l'inhibe totalement, tandis que 0,00125 la ralentit encore.

D.VINCENT, en 1948 (58) exposant ses recherches sur les antibiotiques chez les végétaux supérieurs, conclut en ces termes : "... les alcaloïdes ou hétérosides qu'ils renferment et qui sont responsables de leur toxicité, n'agissent pas ou peu comme agents bactériostatiques. Si l'on excepte le cas des alcaloïdes de la Chélidoine, (selon STICKL), ou de l'hordénine des touraillons d'orge, dont l'action ne se fait, d'après CAMUS, qu'aux fortes concentrations de 4 ou 5 % sur le Colibacille, le Bacille typhique ou le vibrion cholérique, ce n'est pas, semble-t-il, dans les substances classiquement considérées comme pharmacologiquement actives qu'il faut chercher les agents antibiotiques."

En 1949 SHU CHUNG LU et LAN TIEN HO (47) étudient l'action du sulfate de berberine sur le Staphylocoque et montrent que c'est une action bactériostatique plutôt que bactéricide.

Dans une thèse soutenue à Holsinki, en 1948, T.SAVOLAINEN (45) a recherché le pouvoir bactériostatique de 1300 substances chimiques parmi lesquelles quelques alcaloïdes.

C.C.JOHNSON, C.JOHNSON, Ch.POE et Fred.G.DROMMOND (24) font connaître successivement en 1948, 1949, 1950 et 1952, les résultats de leurs recherches sur l'action des alcaloïdes sur les bactéries. Ils étudient les alcaloïdes du groupe de la quinine, les alcaloïdes de l'opium, la colchicine, la pilocarpine, la vératrine, la coniine, la nicotine, la strychnine, la berberine, la physostigmine et, enfin, la sanguinarine qui, d'après les auteurs, possède un pouvoir bactériostatique plus important que les autres produits.

A la concentration de 1 pour 4000 la sanguinarine inhibe le développement d'*Escherichia* et, à la concentration de 1 pour 5.000, elle arrête la culture d'*Aerobacter aerogenes*.

Enfin en 1951, R.PARIS et A.GERMAN (42) signalent que la cépharantine, alcaloïde du *Stephania cepharantha*, possède à l'égard du *Bacille tuberculeux* un pouvoir bactériostatique voisin de 1/50.000.

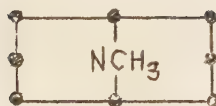
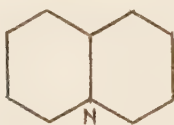
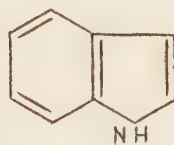
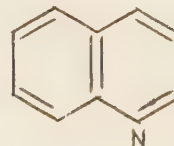
RAPPEL DE LA CONSTITUTION DES ALCALOÏDES

MIS EN EXPERIENCE

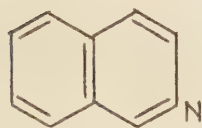
Les alcaloïdes sont des composés azotés, le plus souvent oxygénés, de nature plus ou moins basique, dont l'azote fait généralement partie d'un système hétérocyclique ; existant dans les plantes et plus rarement chez les animaux, fréquemment doués d'une forte activité physiologique et se comportant souvent de façon analogue vis-à-vis de réactifs généraux dits "réactifs des alcaloïdes".

Il n'entre pas dans le cadre de notre étude de les définir avec plus de précision, notons seulement que les alcaloïdes dont la constitution a pu être déterminée, ont été classés en un certain nombre de séries d'après la nature de leur noyau hétérocyclique. Nous avons adopté pour situer ceux que nous avons étudiés, la classification indiquée par P.LEBEAU et G.COURTOIS (30) ; avant de rappeler cette classification nous ajouterons que nous avons étudié également des produits synthétiques qui ne rentrent pas dans la liste des alcaloïdes d'après la définition restrictive que nous venons de donner : tout d'abord, l'héroïne, la novocaïne et la stovaïne et, d'autre part, un bloc alcaloïdique, le bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'Holarrhène, qui renferme l'ensemble des alcaloïdes, conessine et autres, contenu dans l'Holarrhena floribunda, plante de la famille des Apocynacées.

CLASSIFICATION DES ALCALOÏDES

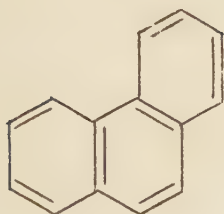
Cycles fondamentaux	Alcaloïdes	Plantes dans lesquelles on les trouve en plus grande quantité	
ARYLAMINE	Hordénine Ephédrine Colchicine	Hordeum Ephedra Colchicum autumnale	Graminées Gnétacées Colchicacées
PYRROL	aucun alcaloïde de ce groupe n'a été étudié		
			
PYRIDINE	Cicutine Arécoline Lobéline Nicotine Anabasine	Conium maculatum Areca catechu divers Lobelia divers Nicotiana Anabasis aphylla	Ombellifères Palmiers Lobéliacées Solanacées Chénopodiacées
			
TROPANE	Atropine Hyosciamine Scopolamine Cocaïne	divers Solanées " " " " Erythroxyton coca	Solanacées " " Erythroxylacées
			
NOR LUPINANE	Spartéine	Sarothamnus scoparius	Légumineuses
			
INDOL	Harmine Esérine Strychnine Brucine Yohimbine Corynanthine Ibogaine	Peganum harmala Physostigma venenosum divers Strychnos " " Corynanthe yohimbe Pseudocinchona Tabernanthe iboga	Rutacées Légumineuses Loganiacées " " Rubiacees " Apocynacées
			
QUINOLEINE	Quinine	divers Cinchona	Rubiacees
			

ISOQUINOLEINE



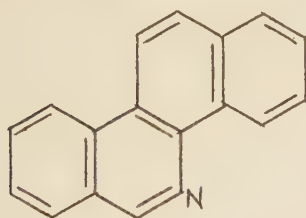
Hydrastine	Hydrastis canadensis	Renonculacées
Berbérine	Berberis vulgaris	Berberidacées
Isotétrandrine	divers Stephania	Menispermacées
Cépharanthine	" "	"
Emétine	divers Uragoga	Rubiacées
Céphéline	" "	"
Mescaline	Echinocactus Williamsi	Cactacées
Papavérine	divers Papaver	Papavéracées
Narcotine	" "	"
Narcéine	" "	"
Tubocurarine	divers Chondrodendrum	Ménispermacées

PHENANTHRENE



Morphine	divers Papaver	Papavéracées
Codéine	" "	"
Dionine	" "	"
Héroïne	préparés à partir	
Apomorphine	de la morphine	
Boldine	Pneumus boldus	Monimiacées

NAPHTOPHENANTHRIDINE



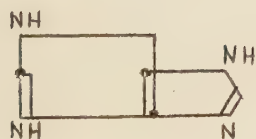
Chélidonine	Chelidonium majus	Papavéracées
Sanguinarine	Sanguinaria canadensis	"

GLYOXALINE



Pilocarpine	divers Pilocarpus	Rutacées
-------------	-------------------	----------

PURINE



Caféine	divers Coffea	Rubiacées
Théobromine	divers Theobroma	Sterculiacées
Théophylline	Thea sinensis	Ternstraemiacées

Alcaloïdes non sériés

Disons quelques mots de ces alcaloïdes dont la composition est encore mal connue et qui ne peuvent être classés dans aucun des groupes ci-dessus.

La vératrine est le nom commercial qui désigne l'ensemble des alcaloïdes de Schoenocaulon officinale (Liliacées) dont les formules sont encore discutées.

L'aconitine, alcaloïde isolé de divers Aconitum (Renonculacées) se rattacherait au groupe des stéroïdes. Sa formule n'est pas encore définie exactement.*

La cassaine, alcaloïde retiré de Erythrophleum guineense (Légumineuses), de formule encore discutée, a été isolée et étudiée par DELMA et ses collaborateurs*.

La conossine est isolée de Holarrhena floribunda (Apocynacées), sa formule n'est pas encore déterminée.*

La xanthofagarine a été isolée par R. PARIS et H. MOYSE de Fagara macrophyllum (Rutacées), sa formule est encore mal connue.*

La rotundine est retirée d'un Stephania (Ménispermacées), sa formule est encore inconnue.

Nous ajouterons à cette liste la novocaïne et la stovaine qui sont des alcaloïdes de synthèse, et un bloc alcaloïdique, le bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'Holarrhène qui renferme l'ensemble des alcaloïdes de cette plante et d'autres produits non alcaloïdiques et dont la composition exacte est mal connue.

* Citons quelques références concernant les travaux effectués au sujet de la constitution chimique de ces différents produits :

Aconitine: See Wright et Luff, J. chem. Soc. 1875 29 1265; 1877 31 143; 1878 33, 318 ; 1879 35, 387 .

Jurgens, Inaug. Diss. Dorpat, 1885

Dunstan et ses collaborateurs, J.Chem.Soc. 1891 59, 271; 1892 61, 385

Fround et Beck, Ber: 1894 27, 433

Schulze, Apoth. Zeit. 1904 18, 783; 1905 20, 368, Arch. Pharm. 1906, 244, 136, 165 ; 1908 246, 281.

Dunstan et Henry, J.Chem. Soc. 1905 87, 1653

Cassaine : Ruzicka et Dalma, Relv. Chim. Acta 1939 22, 1516 ; avec Scott, 1941, 24, 179 E ; avec Engel, Ronco et Berse, 1945 28, 1038.

Conossine : S. et R.H.SIDDIQUI J.Ind.Chem. Soc. 1934, 11, 787.

Références citées par HENRY, The plant alkaloids, 1949 4è.éd.

Xanthofagarine : R. PARIS et H. MOYSE, Ann.Pharm.franç. 1947, 5 410 ; 1948, 6, 409 ; 1951, 9, 479.

ESSAIS PERSONNELS

PREMIERE PARTIE

ETUDE DE L'ACTION BACTERIOSTATIQUE DE QUELQUES ALCALOIDES

Le pouvoir antigénétique ou bactériostatique d'une substance peut être défini par la faculté que possède cette substance de suspendre temporairement la vie d'un germe ou de s'opposer à son développement, dans un milieu où se trouvent réalisées les conditions optima.

La dose antigénétique ou bactériostatique de la substance considérée est la quantité de cette substance qu'il suffit d'ajouter à un litre de bouillon de culture pour y empêcher le développement d'une quantité déterminée de germes, dans des conditions favorables.

Plusieurs méthodes ont été décrites par les auteurs pour déterminer cette valeur. Nous en avons utilisé deux que nous décrirons plus loin ; ces deux méthodes sont basées sur le même principe : la solution de la substance à étudier est diluée à des doses décroissantes dans un milieu de culture ; on détermine la plus faible dilution de cette substance qui arrêtera le développement d'une quantité connue de germes. Si le milieu de culture est liquide, bouillon de viande ou milieu synthétique, le germe est ensemencé dans le milieu : c'est la méthode dite "des dilutions". Si le milieu de culture est solide, le germe est ensemencé à la surface du milieu préalablement liquéfié et additionné de la solution étudiée, avant solidification. Nous dénommerons cette technique "technique des stries" pour éviter les confusions, bien que ce soit en fait une technique des dilutions en milieu solide.

Avant de donner les résultats obtenus dans l'étude de l'action bactériostatique des alcaloïdes, nous allons rapporter les essais effectués en vue de préciser les conditions expérimentales à adopter, en tenant compte de l'influence de différents facteurs (méthode, milieu de culture, nombre de germes ensemencés, diamètre des tubes à essai, etc...) susceptibles d'influencer les résultats de l'essai. Nous indiquerons ensuite les conditions que nous avons adoptées.

I - METHODES UTILISEES

Nous avons utilisé d'une part la méthode des stries sur gélose et, d'autre part, la méthode des dilutions.

A - Méthode des stries sur gélose -

Elle offre l'avantage d'être utilisable, lorsque l'on a affaire

à des antiseptiques insolubles ou donnant des précipités avec les milieux de culture liquides.

Le milieu de culture que nous employons est le bouillon gélosé à 20 grammes de gélose pour 1.000 cm³ de bouillon de viande peptoné à 20 grammes pour 1.000 et salé à 10 grammes pour 1.000. Cette gélose est répartie dans des tubes à essai à raison de 18 cm³ par tube et stérilisée 20 minutes à 115°.

Au moment de l'essai, les tubes sont chauffés au bain-marie jusqu'à liquéfaction de la gélose, puis refroidis à 45° environ.

Une série de dilutions décroissantes de la substance à étudier est préparée, dilutions effectuées dans de l'eau distillée stérile. 2 cm³ de chaque dilution sont prélevés aseptiquement et ajoutés à chacun des tubes de gélose. Ces tubes sont homogénéisés en les roulant entre les mains et le contenu de chacun d'eux est vidé dans une boîte de Pétri préalablement stérilisée et dont le couvercle a été garni d'un disque de papier filtre. Après refroidissement de la gélose, les boîtes de Pétri sont placées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour éprouver la stérilité de la préparation et assurer une dessiccation suffisante du milieu.

Après 24 heures le disque de papier filtre, humide, est retiré de la boîte, puis la gélose estensemencée. Le fil employé pour cette opération est courbé suivant le dessin ci-contre - (Fig.n°1). Il est plongé dans une culture de 24 heures en bouillon de viande, égoutté et posé, sans



Fig. n°1

être enfoncé, à la surface de la gélose.

Dans une même boîte de Pétri plusieurs bactéries peuvent êtreensemencées, il suffit de faire une strie pour chaque germe essayé. - (Fig. n°2). Pour chaque essai nous préparons une boîte témoin dont la gélose est exempte d'alcaloïde. La lecture est effectuée par rapport à ce témoin après 24 heures, puis 48 et 72 heures de culture à l'étuve à 37°C. Les boîtes sont toujours placées retournées dans l'étuve, afin que l'eau de condensation tombe dans le couvercle de la boîte.

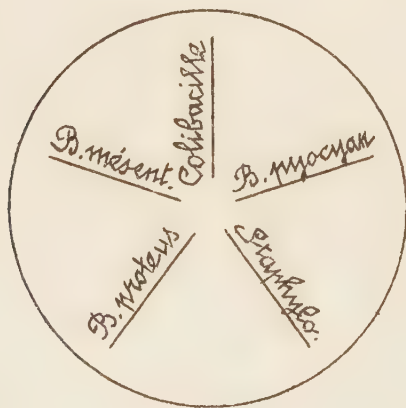


Fig. N°2

B - Méthode des dilutions

C'est la méthode la plus couramment utilisée pour l'étude des substances antiseptiques solubles dans l'eau. Nous avons eu recours au mode opératoire indiqué par S.LAMBIN (28).

Ayant préparé, au moment de l'essai, les solutions de la substance

à étudier et la suspension de germes dans les conditions que nous précisons plus tard, nous disposons une série de tubes stériles contenant 2,5 cm³ d'un milieu de culture à concentration double. Dans chacun de ces tubes nous répartissons aseptiquement une quantité fixe de suspension microbienne, puis des quantités décroissantes de la solution du produit à étudier. Le volume est ensuite complété à 5 cm³ afin de porter le milieu de culture à sa concentration normale.

A chaque série d'essai nous ajoutons un tube exempt de produit inhibiteur, qui sert de tube témoin pour la lecture des résultats.

Les séries de tubes à essai sont placées à l'étuve à 37°C et la lecture des résultats se fait après 24 heures, puis 48 et 72 heures de culture.

II - MILIEUX DE CULTURE

Les milieux de culture que nous avons utilisés pour l'étude des alcaloïdes sont des milieux semi-synthétiques, ceci pour deux raisons : les alcaloïdes donnent fréquemment des précipités avec le bouillon de viande et avec l'eau peptonée, d'autre part la composition de ces milieux est plus constante que celle des milieux à base de bouillon de viande, dont la constitution varie d'une fabrication à l'autre. Nos milieux de culture préparés à partir de sels minéraux, de glucose et d'autolysat de levure ou d'hydrolysate de caséine, nous permettent d'opérer dans des conditions toujours identiques, surtout si nous ajoutons que nous avons toujours employé un même stock d'autolysat de levure et un même stock d'hydrolysate de caséine.

A - Milieu à l'autolysat de levure -

La constitution de ce milieu est la suivante :

I/ Milieu de base

Glucose	20 gr
Phosphate bipotassique	2 -
Sulfate de magnésium	0,20
Chlorure d'ammonium	1
Sulfate de fer	0,02
Eau distillée	450 cm ³

II/ Solution d'autolysat de levure

L'autolysat de levure peut être préparé à partir de la levure de boulanger, 300 grammes que l'on masse avec 150 cm³ d'eau distillée, on place 48 heures à l'étuve à 37° pour obtenir la dessiccation.

Dans nos essais nous avons utilisé un produit préparé par les Etablissements BYLA, dans les proportions suivantes :

Autolysat de levure	14 g
Eau distillée	50 cm ³

Cette solution est ajoutée au milieu de base, le tout est filtré et ajusté à pH 7,2 au moyen de soude diluée au 1/10 en présence de bleu de

bromothymol comme indicateur. Le milieu est stérilisé à l'autoclave 45 minutes à 100-105° sans dépasser cette température.

La formule que nous venons de donner est destinée à fournir un milieu à concentration double, tel que nous l'employons au cours de nos essais. Ce milieu est réparti dans des tubes à essai de 18 mm. de diamètre à raison de 2,5 centimètres cubes par tube et stérilisé à nouveau à 100-105° pendant 20 minutes.

Ce milieu nous a donné de très bons résultats pour le développement des différentes bactéries que nous avons mises en expérience et dont nous indiquerons les noms plus loin.

Pour montrer l'influence des milieux de culture dans la méthode des dilutions, nous indiquons dans le tableau ci-après (Tableau n°1) les résultats obtenus avec un milieu à l'hydrolysate de caséine qui convient très bien à la culture de Staphylococcus aureus et dont nous verrons l'emploi pour la recherche d'une action favorable des alcaloïdes sur le développement de ce germe.

B - Milieu à l'hydrolysate de caséine -

Ce milieu renferme :

Hydrolysate de caséine.....	10 g
Glucose	2 -
Eau distillée	500 cm ³

Nous indiquons sa formule à concentration double, tel que nous le préparons pour nos essais.

Les produits sont dissous dans l'eau. Le milieu est ajusté à pH 7,2 au moyen de soude diluée au 1/10, filtré et stérilisé 20 minutes à 110-115° sans dépasser cette température.

C - Eau peptonée glucosée du Codex -

Il nous a paru intéressant de comparer le développement de Staphylococcus aureus dans les milieux indiqués ci-dessus à celui observé dans l'eau peptonée, salée et glucosée. La Pharmacopée française (Codex 1949, p.1069) préconise ce milieu pour éprouver la stérilité des solutés injectables. Nous verrons plus loin que nous avons été amenée à utiliser ce milieu, afin de déterminer la dose bactériostatique des alcaloïdes contenus dans les solutés injectables, expérience que nous avons effectuée, afin de discuter de la valeur de l'essai de stérilité tel qu'il est indiqué au Codex.

Ce milieu a la composition suivante :

Peptone.....	20 g
Chlorure de sodium.....	1 -
Glucose.....	1 -
Eau distillée	500 cm ³

pour un milieu à concentration double.

Les produits sont dissous dans l'eau, le pH est ajusté à 7,2 au moyen de soude diluée. Après filtration le milieu est stérilisé à 120° pendant 20 minutes.

Nous donnons ci-dessous (courbe n°1) la courbe de croissance de Staphylococcus aureus en présence de ces trois milieux de culture par rapport au développement dans un bouillon de viande dont la composition est la suivante :

D - Bouillon de viande -

Viande de boeuf dégraissée et hachée	500 g
Eau	500 cm ³
Peptone	20 g
Chlorure de sodium	10 g

qui est préparé selon la technique classique.

Les proportions que nous venons d'indiquer sont celles d'un bouillon à concentration double comme nous l'avons fait pour les autres milieux de culture.

Il nous a semblé intéressant de rechercher si une faible quantité de gélose (1 pour 1.000) ajoutée au bouillon entraînait un meilleur développement comme cela a été indiqué pour certaines bactéries, par C.R.FALK (18).

En examinant les courbes ci-dessous nous voyons que les deux milieux semi-synthétiques conviennent bien au développement de Staphylococcus aureus (souche + de la Faculté de Pharmacie), les résultats que nous avons obtenus se sont montrés très réguliers.

Il est intéressant de noter qu'au cours du développement du Staphylocoque en milieu à l'hydrolysate de caséine, la phase de latence est un peu plus longue (5 heures 30) que celle de la culture en bouillon de viande (4 heures 30). La phase logarithmique se poursuit d'une façon normale, parallèlement à la courbe témoin en bouillon de viande ; les phases de multiplication ralenties suivent un cours identique ; le maximum de croissance est atteint dès la 24^è heure et après 38 heures commence la phase de déclin.

La courbe de croissance dans le milieu à l'autolysat de levure s'écarte un peu plus de la courbe témoin. La phase de latence est un peu plus longue (5 heures 30) et la culture se développe moins rapidement dans les premières heures. Par contre la phase logarithmique est ensuite plus rapide et l'opacité de la culture est plus importante que celle du bouillon, 16 heures après l'ensemencement. Le maximum de développement est atteint un peu plus tardivement, à la trentième heure seulement, et reste toujours légèrement supérieur à celui de la culture dans le bouillon de viande. Il apparaît donc que, malgré un départ plus lent, c'est dans ce milieu que la bactérie trouve les éléments les plus favorables à sa croissance.

L'addition de 1 gramme de gélose pour 1.000 cm³ de bouillon de viande modifie peu le développement du Staphylocoque. La phase logarithmique est légèrement plus rapide, mais le maximum de développement reste un peu

inférieur au développement dans le bouillon.

III - NOMBRE DE GERMES EN EXPERIENCE

Le nombre de germes servant à l'ensemencement s'est révélé comme un facteur important, faisant varier les résultats de façon très considérable pour certains produits surtout. Ce fait que nous avons constaté au cours de nos essais a été étudié récemment par S.LAMBIN et M.ROBERT (29). D'après ces auteurs, lorsque la concentration de germes de la culture de Staphylocoque passe de 50.000 à 10 millions par centimètre cube, la dose antigénétique est multipliée par des coefficients variant de 1 à 20 suivant les substances antimicrobiennes essayées.

Nous comparons dans le tableau ci-dessous (Tableau n°1) les résultats obtenus avec un ensemencement de 10 millions de germes par centimètre cube, nombre préconisé par S.LAMBIN (28) pour l'étude des substances antiseptiques, et que nous avons finalement adopté, puis un ensemencement de 500.000 germes par centimètre cube.

IV - INFLUENCE DU DIAMETRE DES TUBES OU FIOLES UTILISES POUR LES ESSAIS

La forme des récipients utilisés n'est pas sans influencer les résultats des essais, du fait des conditions relatives d'aérobiose offertes aux bactéries. Nous verrons plus loin que nous avons été amenée à utiliser les fioles d'Erlenmeyer, modifiées par RAOUL et MEUNIER, pour certains essais. Nous avons d'autre part effectué d'autres expériences en employant des tubes à essai normaux. Nous indiquons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus en employant ces fioles dont le diamètre de base est de 57 mm et les résultats obtenus en employant des tubes de 18 mm de diamètre sur 18 cm de hauteur.

Nous avons résumé dans le Tableau n°1 les résultats obtenus dans la détermination de la dose antigénétique de quelques substances à l'égard de Staphylococcus aureus, en conditions variables ; ces variables étant :

- 1°- La méthode d'essai adoptée : technique des stries sur gélose et technique des dilutions.
- 2°- Le milieu de culture :
 - milieu à l'autolysat de levure
 - milieu à l'hydrolysate de caséine
 - bouillon peptoné salé
 - eau peptonée salée glucosée.
- 3°- Le nombre de germes en essai :
 - 500.000 et 10.millions de germes par cm³.
- 4°- La forme et la dimension des récipients de culture :
 - tubes à essai
 - fioles de RAOUL et MEUNIER.

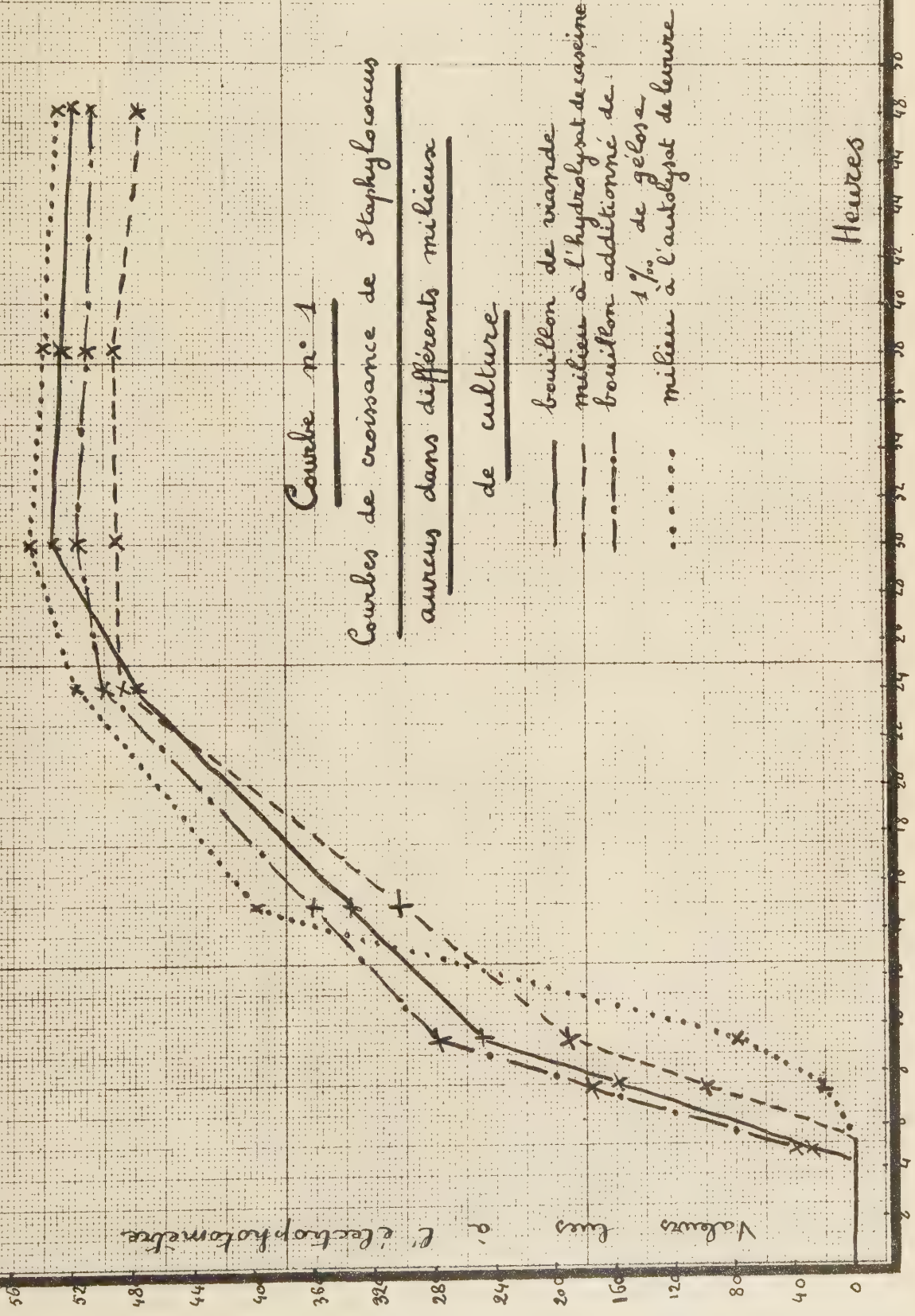


TABLEAU N°1

DOSES ANTIGENETIQUES POUR STAPHYLOCOCCUS AUREUS
DANS DIVERSES CONDITIONS EXPERIMENTALES
(grammes pour 1000 cm³)

Méthode des Dilutions										Méthode "des series"
Tubes à essai								Fioles de RAOUL		
Milieux	Bouillon		Eau peptonée glucosée		à l'autolysat de levure		à l'hydrolysate de caséine			
	500.000	10 millions	500.000	10 millions	500.000	10 millions	500.000	10 millions		
nombre de germes par cm ³										
Phénol	1,65	1,85	2,15	2,15	1,65	2,25	1,65	1,65	1,25	2,25
Guinisol	0,0035	0,0075	0,0075	0,020	0,0035	0,0075	0,00075	0,0015	0,0030	0,020
Chlorh. d'harmine	0,075	0,25	0,15	0,15	0,20	0,30	0,035	0,075	0,075	0,30

L'examen de ce tableau montre que la dose antigénétique varie avec les facteurs de l'essai et dans des proportions variables selon la substance à l'étude.

En ce qui concerne l'influence de la METHODE utilisée, nous voyons que les résultats obtenus avec la méthode des stries donnent des chiffres en général plus élevés que les autres résultats obtenus. 2,25 grammes de phénol par litre sont nécessaires pour exercer une action bactériostatique avec cette méthode tandis que 2,15, 1,65, et même 1,25 grammes par litre suffisent dans d'autres conditions. Il faut 0,30 gramme de chlorhydrate d'harmine pour arrêter le développement de Staphylococcus aureus en employant la méthode des stries, tandis que cette quantité n'est indispensable, avec la méthode des dilutions, que si l'on utilise le milieu à l'autolysat de levure, en ensemençant avec 10 millions de germes par centimètre cube ; dans d'autres conditions 0,20, 0,075 et même 0,0075 gramme suffisent.

Nous voyons d'autre part que le MILIEU DE CULTURE utilisé pour les essais a une importance très grande sur les résultats obtenus. Les conditions de l'essai étant identiques en ce qui concerne la méthode utilisée, le nombre de germes et la grandeur des récipients, 0,075 gramme de chlorhydrate d'harmine par litre suffit à inhiber la croissance du Staphylocoque en milieu à l'hydrolysate de caséine, tandis qu'il faut 0,30 gramme par litre si on utilise le milieu à l'autolysat de levure, 0,00075 gramme par litre de quinosol suffit à inhiber le développement du Staphylocoque en milieu à l'hydrolysate de caséine, tandis qu'il faut 0,0035 g. en milieu à l'autolysat de levure pour un même nombre de germes de 500.000 par centimètre cube.

Le NOMBRE DE GERMES influe sur les résultats : c'est ainsi qu'avec 500.000 germes par centimètre cube, 0,075 g. de chlorhydrate d'harmine arrête le développement du Staphylocoque en bouillon de viande, tandis qu'il en faut 0,250 si l'on ensemence à raison de 10 millions de germes par centimètre cube.

La forme des récipients utilisés pour les essais n'est pas sans influencer les résultats. En employant la méthode des dilutions avec le même milieu à l'hydrolysate de caséine et le même nombre de germes à l'ensemencement, (500.000 par centimètre cube), nous obtenons des résultats différents en employant des tubes à essai ou des fioles de RAOUL et MEUNIER. Il faut moins de phénol (1,25 au lieu de 1,65) si l'on utilise les fioles de RAOUL, mais, par contre, il faut plus de chlorhydrate d'harmine et plus de quinosol, 0,075 au lieu de 0,035 gramme pour le chlorhydrate d'harmine et 0,0030 au lieu de 0,00075 pour le quinosol.

D'autre part il nous paraît intéressant de faire remarquer que les doses antigénétiques du phénol ne varient que dans de faibles proportions, les chiffres limites obtenus étant 1,25 et 2,25 grammes par litre. Par contre les chiffres obtenus pour le chlorhydrate d'harmine varient entre des limites beaucoup plus larges de 0,075 à 0,300 gramme par litre ; c'est-à-dire dans les proportions de 1 à 4. Pour le quinosol les limites

sont encore plus larges, de 0,00075 à 0,020 gramme par litre, doit dans les proportions de 1 à 26 environ.

Nous voyons d'après les résultats de cette étude que chacun des facteurs de l'essai influence plus ou moins les résultats obtenus et qu'il est nécessaire d'indiquer d'une façon précise les conditions qui sont appliquées dans un essai.

CONDITIONS ADOPTÉES

Avant de donner les résultats obtenus dans l'étude des alcaloïdes nous allons indiquer les conditions expérimentales que nous avons finalement adoptées pour nos essais, ayant tenu compte des observations précédemment effectuées.

I - METHODE - Nous avons employé la méthode des dilutions pour laquelle les conditions de l'expérience peuvent être indiquées avec plus de précision que dans la méthode des stries, en particulier en ce qui concerne le nombre de germes mis en expérience. Cependant trois alcaloïdes, le cholrhydrate d'apomorphine, le nitrate de sanguinarine et le chlorhydrate de narcotine, qui donnent un précipité avec le milieu synthétique, ont été étudiés par la méthode des stries sur gélose, cette méthode ayant l'avantage de permettre la mise en suspension de produits non solubles dans les milieux liquides.

II - MILIEU DE CULTURE - Nous avons utilisé le milieu à l'autolysat de levure dont nous avons donné la formule et la préparation plus haut. Nous avons adopté ce milieu parce qu'il semble donner des doses antigénétiques plus élevées que les autres milieux semi-synthétiques étudiés ; ce qui met à l'abri d'une interprétation trop favorable de l'activité des substances étudiées. Nous avons toujours employé le même stock d'autolysat, afin d'être assurée de la composition constante de notre milieu de culture.

III - SOUCHES MICROBIENNES - Nous avons expérimenté successivement nos produits sur huit bactéries dont les souches proviennent de la collection du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie et qui sont les suivantes :

- une souche de Staphylococcus aureus (souche +)
- Pseudomonas aeruginosa (souche 1)
- Escherichia coli (souche Samet)
- Bacillus mesentericus vulgatus (souche 100)
- Proteus X 12 (souche A)
- Eberthella typhosa (souche 1)
- Klebsella pneumoniae (souche C+)
- Shigella dysenteriae (souche 35)

Ces différentes souches sont entretenues sur gélose inclinée et réensemencées tous les mois.

Pour les essais nous utilisons une culture de 24 heures sur gélose inclinée. Pour le Bacille mesentericus seul, la culture utilisée est âgée de 48 heures. Notre souche de Bacille mesentericus sporule en 24 heures, fait que nous avons vérifié plusieurs fois par étalement et coloration de gram, mais nous l'avons toujours utilisée âgée de 48 heures pour être sûre de la forte proportion des spores.

Shigella dysenteriae est le seul bacille qui nous ait donné des résultats irréguliers, mais nous n'avons considéré comme valables que les essais dont les témoins se sont développés normalement en 24 heures.

IV - NOMBRE DE GERMES EN EXPERIENCE - Comme nous venons de le voir, le nombre de germes ensemencés est un facteur important faisant varier les résultats obtenus. Nous avons adopté une concentration que nous avons toujours employée lors de nos différents essais. La suspension de germes nous servant d'étalon est une suspension de Staphylococcus aureus en eau distillée stérile, préparée avec une culture de 24 heures sur gélose inclinée et renfermant 200 millions de germes par centimètre cube. Cette suspension a été préparée comparativement à une gamme étalon préalablement établie à l'aide d'une méthode de numération microscopique. L'addition de quelques gouttes de formol nous a permis de conserver notre suspension étalon dans un tube à essai fermé à la flamme.

Pour chacun de nos essais, nous avons préparé une suspension de bactéries identique à cette suspension étalon. 0,25 cm³ de cette suspension à 200 millions de germes par cm³ introduit dans 5 cm³ de milieu de culture, fournit une concentration finale de 10 millions de germes par cm³.

En ce qui concerne les autres bactéries, nous avons préparé des suspensions de même opacité que celle du Staphylocoque et nous nous sommes ensuite reportée aux courbes établies par A. DESVIGNES (14) pour déterminer le nombre de germes dans chacune d'elles. Ce qui nous a donné les résultats suivants :

Dans les suspensions de bacille pyocyanique : 334 millions de germes par centimètre cube.

Dans celles de Colibacille : 196.500.000 germes par centimètre cube.

Dans celles de Pneumobacille : 138 millions de germes par centimètre cube.

Pour le Bacille typhique nous avons utilisé les résultats obtenus par un de nos collègues de laboratoire dont le travail sera publié prochainement. La suspension correspondant à notre étalon renferme 163 millions de Bacilles typhiques.

En ce qui concerne le Bacille mesentericus et le Bacille dysentérique (Shiga), aucune courbe n'ayant encore été établie, nous nous sommes contentée de préparer nos suspensions identiques à celles du Staphylocoque sans déterminer le nombre de germes contenus par centimètre cube.

V - SOLUTION DU PRODUIT A ETUDIER - Les alcaloïdes ont tous été étudiés, à l'exception de la cassaine et de la xanthofagarine, à l'état de sels ; ces produits sont pesés dans les meilleures conditions d'aseptie possible et dissous dans de l'eau distillée préalablement stérilisée.

A chaque série d'essai nous avons ajouté un tube témoin de la stérilité de la solution essayée, nos stocks d'alcaloïdes se sont toujours montrés stériles.

Les résultats que nous donnons dans nos tableaux sont indiqués en grammes de sels par litre d'eau, cependant nous n'avons pas toujours eu à notre disposition des sels d'alcaloïde et nous avons dû, pour quelques produits, salifier nous-même la base. Notre pesée de précision étant effectuée sur la base nous avons indiqué nos résultats en grammes d'alcaloïde base par litre d'eau et nous l'avons alors spécifié dans nos tableaux. La comparaison des résultats indiqués à l'état de sel avec d'autres résultats indiqués à l'état de base, peut se faire sans grande erreur. En effet, le poids moléculaire de l'alcaloïde étant très élevé par rapport à celui de l'acide servant à le salifier, il n'y a pas une différence très importante entre le poids du sel et le poids de la base. D'autre part, nous verrons plus loin que nous n'avons pas pu resserrer les gammes de dilutions des produits étudiés.

A titre d'exemple indiquons les résultats obtenus avec la cépharanthine :

Le poids moléculaire de la cépharanthine C₃₇ H₃₈ N₂ O₆ est 606.
Le poids moléculaire de son chlorhydrate est 642,5.

La dose bactériostatique de cet alcaloïde varie selon l'espèce microbienne de 0,075 à 1,50 gramme par litre.

0,075 g. de base	correspondent à	0,079 g. de sel
1,50 g. de base	"	à 1,59 de sel.

1,50 est le résultat obtenu en faisant la moyenne entre 1 et 2 grammes et 0,075 en faisant la moyenne entre 0,050 et 0,10 g. Etant donné cette approximation nous voyons qu'il importe peu de considérer le produit à l'état de sel ou à l'état de base pour comparer ces résultats à ceux d'autres alcaloïdes.

SCHEMA D'UN ESSAI

N'ayant aucune idée de l'action bactériostatique de nos produits nous avons dû, pour chacun, opérer par tâtonnement. Nous allons indiquer à titre d'exemple l'essai du chlorhydrate de céphéline.

Nous effectuons un premier essai avec une gamme de dilutions très large, afin de déterminer approximativement le pouvoir antigénétique. Avant ce premier résultat nous préparons une deuxième gamme de dilutions avec des concentrations plus rapprochées et ainsi jusqu'à ce que nous

ayons déterminé la dose antigénétique pour chaque bactérie mise en expérience. Dans les Tableaux n° 2 et n° 3 nous indiquerons, à titre d'exemple, l'essai du chlorhydrate de céphéline sur le Staphylocoque, les conditions étant les mêmes pour les autres bactéries.

Nous indiquerons nos résultats d'après l'état de la culture microbienne avec la notation suivante :

++ développement normal identique au témoin
 + " moindre mais évident
 ± " douteux
 0 absence de culture.

TABLEAU N° 2

Ier Essai - Sur Staphylococcus aureus - (souche +)

	Volume en cm ³					
	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Milieu à conc.double	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Suspension microbienne	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Solution de chl. de céphéline au 1/40 au 1/400	2	1	0,20	1	0,20	
Eau distillée stérile	0,25	1,25	2,05	1,25	2,05	2,25
Dilutions finales en grammes de sel par litre	10	5	1	0,50	0,10	témoin
<u>Résultats</u> : après 24 h.	0	±	++	++	++	++
- 48 h.	0	++				
- 72 h.	0					

CONCLUSION : D'après ce premier essai nous voyons que le chlorhydrate de céphéline possède une certaine action bactériostatique vis-à-vis du Staphylocoque et que la dose antigénétique est comprise entre 5 et 10 grammes par litre. Nous effectuons un deuxième essai avec une gamme de dilutions plus resserrée entre ces deux chiffres.

TABLEAU N° 3

2ème Essai -

	Volume en cm ³					
	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Milieu à conc.double	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Suspension microbienne	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Solution de chl. de céphéline au 1/40	1,40	1,20	1	0,80	0,60	
Eau distillée stérile	0,85	1,05	1,25	1,45	1,65	2,25
Dilutions finales en g.de sel par litre	7	6	5	4	3	témoin
Résultats: après 24 h.	0	0	+	+	++	++
- 48 h.	0	0	++	++		
- 72 h.	0	0				

CONCLUSION - La dose bactériostatique pour le Staphylocoque se trouve comprise entre 5 et 6 grammes par litre, nous prendrons comme résultat la moyenne entre ces deux chiffres, soit 5,50 g.

Nous n'avons pas poursuivi nos lectures après trois jours, l'expérience nous ayant montré que, dans les conditions de nos essais, les bactéries qui ne se sont pas développées pendant ce temps, ne se développent pas plus tard.

Nous n'avons pas resserré davantage nos gammes de dilutions parce que, d'une part, les alcaloïdes étant peu actifs, leur dose antigénétique est en général de l'ordre du gramme, ce qui exige une consommation importante de produit pour chaque essai. N'ayant eu en notre possession que des quantités limitées de produit il nous a paru plus intéressant d'effectuer nos essais sur plusieurs bactéries, afin de rechercher l'existence d'une activité plus importante sur l'une d'elles, que de resserrer nos gammes de dilutions. D'autre part, nous nous sommes aperçue, au cours de nos essais, que, pour des gammes de dilutions très rapprochées, nous obtenions des résultats difficiles à interpréter et assez irréguliers d'une expérience à l'autre.

Cette irrégularité dans les résultats obtenus lors de l'étude des alcaloïdes a déjà été signalée par HALM A. et TORRES (21) qui indiquent que l'essai du chlorhydrate de morphine sur le Bacille typhique leur a donné des résultats variant de 1/90 à 1/275, soit de 11 g. à 3,60 grammes par litre.

De plus les alcaloïdes agissent en ralentissant le développement microbien, et la zone d'action bactériostatique est très étendue pour

certain. Par exemple nous verrons que le phénylbutyrate de novocaïne arrête, à une concentration de 8 grammes par litre, le développement du Bacille typhique, mais 5 grammes suffisent pour ralentir son développement de façon très sensible. 7 grammes de chlorhydrate de céphéline arrêtent le développement du Pneumobacille tandis que 4 grammes le ralentissent encore considérablement. C'est pourquoi il nous a paru intéressant, dans nos tableaux, d'indiquer les différentes doses actives et de noter l'état de la culture pour chacune suivant quatre valeurs ++, +, $\pm$ et 0. comme nous l'avons indiqué plus haut. Ceci permet d'indiquer que pour certains produits, même si nous n'avons pas déterminé une dose antigénétique, il existe cependant une action freinatrice sur le développement microbien.

Ajoutons que certains produits que nous n'avons pu nous procurer en quantité suffisante, n'ont été étudiés qu'à des concentrations inférieures à 5 grammes par litre ou 2 grammes, alors que pour la plupart nous avons étudié jusqu'à des concentrations de 10 grammes par litre.

Dans nos tableaux de résultats nous comparons l'action de nos produits à celle d'un antiseptique courant dont l'action sur les bactéries est connue : le phénol. Nous avons étudié ce produit dans les mêmes conditions que les alcaloïdes et par les deux méthodes : stries sur gélose et méthode des dilutions.

Pour les produits possédant un certain pouvoir bactériostatique, nous indiquons un "index phénolique" qui est le rapport entre la dose antigénétique du phénol et la dose antigénétique de la substance à l'étude vis-à-vis du même germe. Rappelons que la méthode du "coefficient phénol" est adoptée officiellement dans les pays Anglo-Saxons pour l'étude du pouvoir bactéricide des substances antiseptiques, bien qu'elle soit sujette à certaines critiques. Pour éviter une confusion, nous avons employé ici le terme "index phénolique" pour ce coefficient que nous avons calculé de la manière suivante :

Soit x la dose antigénétique de l'alcaloïde examiné vis-à-vis de Staphylocoque.

La dose antigénétique du phénol dans les mêmes conditions d'essai est 2,25 g.

L'index phénolique sera : $\frac{2,25}{x}$.

Dans une première série de tableaux nous allons donner nos résultats pour chaque alcaloïde, ceux-ci étant classés d'après leur structure chimique, ces résultats seront donnés en détail pour chaque dose expérimentée selon la notation indiquée plus haut.

Dans une seconde série de tableaux nous donnerons les résultats pour chaque bactérie, mais nous n'indiquerons alors que la dose antigénétique et l'index phénolique. Lorsque cette dose n'aura pas pu être déterminée, nous indiquerons la dose la plus forte que nous avons étudiée. Par exemple, le sulfate d'ésérine a été étudié jusqu'à une concentration de cinq grammes par litre, il s'est montré sans action sur le Staphylocoque, nous indiquerons :

Sulfate d'ésérine : dose bactériostatique > 5 g.

La limite de solubilité de la xanthofagarine est 0,40 gramme par litre à l'état de base, ce produit n'a donc pu être étudié qu'à une concentration de 0,20 g. par litre; à cette dose il s'est montré sans action sur le Colibacille, nous indiquerons :

Xanthofagarine (base) : dose bactériostatique $> 0,20$ g.

Enfin il nous a paru intéressant de comparer l'action des quelques alcaloïdes les plus actifs à celle du sulfate d'orthoxyquinoléine ou quinisol. Nous avons choisi cet antiseptique, d'une part parce qu'il est plus actif que le phénol et, d'autre part, pour sa structure isoquinoléique, ce noyau se retrouvant dans certains alcaloïdes.

Nous reprendrons donc l'étude de quelques alcaloïdes et nous comparerons leur action à celle du quinosol que nous avons étudié dans les mêmes conditions. Nous indiquerons un "index quinosolique" calculé comme l'index phénolique.

TABLEAU N° 4

DOSES BACTERIOSTATIQUES DU PHENOL (en grammes par litre)

	Méthode des stries	Méthode des dilutions
Staphylocoque	2,25	2,15
B. pyocyannique	1,25	1,25
Colibacille	1,25	2,25
B. mesentericus	1,50	1,25
B. proteus	1,75	2,25
B. typhique	1,75	1,75
Pneumobacille	1,75	2,25
B. de Shiga	1,25	1,25

Dans les tableaux ci-dessous nous donnons les résultats obtenus pour chaque alcaloïde, ceux-ci étant groupés d'après leur constitution chimique.

Rappelons que la notation employée pour ces résultats est la suivante :

++ développement normal identique au témoin
 + " moindre mais évident
 ± " douteux
 0 absence de culture.

I - GROUPE DE L'ARYLAMINE

SULFATE D'HORDENINE -

L'addition de 5 grammes de sulfate d'hordénine par litre de milieu de culture n'influence en aucune façon le développement des bactéries mises en expérience.

CHLORHYDRATE D'EPHEDRINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde ne retarde pas le développement des six bactéries suivantes : Staphylocoque, Colibacille, B.mesentericus, B.proteus, B.typhique et Pneumobacille. Par contre, le B.pyocyanique et le B. de Shiga ont été entravés dans leur développement qui n'a paru normal qu'après 48 heures de culture.

COLCHICINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur les bactéries mises en expérience.

II - GROUPE DE LA PYRIDINE

BROMHYDRATE DE CICUTINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde ne possède aucune activité sur sept des bactéries mises en expérience. Seul le B. de Shiga est arrêté dans son développement par la présence dans le milieu de culture de 5,50 grammes d'alcaloïde par litre.

BROMHYDRATE D'ARECOLINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde ne possède aucune activité sur les huit bactéries mises en expérience.

CHLORHYDRATE DE LOBELINE -

La faible quantité de ce produit que nous avons pu nous procurer ne nous a pas permis de pousser son étude à une concentration supérieure à 1 gramme par litre, pour laquelle nous n'avons observé aucun retard dans le développement des huit bactéries mises en expérience.

ANABASINE -

Nous n'avons pu étudier ce produit qu'à une concentration de 2 grammes par litre. Aucune des bactéries mises en expérience n'a été influencée dans son développement par la présence de cet alcaloïde dans le milieu de culture.

NICOTINE -

Nous avons pu déterminer pour cet alcaloïde des doses bactériostatiques; dans le tableau n°5 nous donnons les résultats détaillés pour chaque concentration étudiée.

TABLeAU N° 5

N I C O T I N E

	Concentration (g.par litre)	culture en			Dose bactério statique (g.par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	9	0	0	0	8,50	0,25
	8	0	+	++		
	7	++				
B.pyocyannique	7	0	0	0	6,50	0,20
	6	0	++			
	5	+	++			
	4	++				
Colibacille	8	0	0	0	7,50	0,30
	7	++				
B.mesentericus	12	0	0	0	11,50	0,10
	11	0	0	+		
	10	0	+	++		
	9	+	++			
	8	++				
B.proteus	9	0	0	0	8,50	0,26
	8	0	0	+		
	7	++				
B.typhique	8	0	0	0	7,50	0,23
	7	++				
Pneumobacille	9	0	0	0	8,50	0,26
	8	0	0	++		
	7	++				
B.de Shiga	7	0	0	0	6,50	0,20
	6	0	++			
	5	0	++			
	4	++				

CONCLUSION - Seul parmi les alcaloïdes du groupe de la pyridine, la nicotine possède une faible action bactériostatique, qui est de trois à cinq fois moins importante que celle du phénol selon les bactéries envisagées. Nous avons pu également déterminer la dose antigénétique du bromhydrate de cicutine vis-à-vis du B. de Shiga, cet alcaloïde est environ quatre fois moins actif que le phénol.

Aux concentrations étudiées les autres alcaloïdes ne possèdent aucune action antigénétique, dans les conditions de l'essai, sur les bactéries mises en expérience.

III - GROUPE DU TROPANE

SULFATE D'ATROPINE -

A une concentration de 10 grammes par litre de milieu de culture cet alcaloïde n'a aucune activité sur le Staphylocoque, le B.pyocyanique, le Colibacille, le Pneumobacille et le B.proteus. La même concentration retarde sans l'arrêter totalement le développement de B.mesentericus.

Le B.typhique et le B. de Shiga sont les seuls pour lesquels nous avons pu déterminer les doses bactériostatiques du sulfate d'atropine, qui sont respectivement de 7,50 et 6,50 grammes par litre.

BROMHYDRATE DE SCOPOLAMINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur les bactéries mises en expérience.

SULFATE D'HYOSCIAMINE -

Nous avons pu déterminer les doses bactériostatiques de cet alcaloïde. Nous donnons dans le Tableau n°6 les résultats que nous avons obtenus pour chaque concentration étudiée, ces concentrations étant indiquées en alcaloïde base.

CHLORHYDRATE DE COCAINE -

Nous donnons dans le tableau n°7 les résultats que nous avons obtenus dans l'étude de ce produit.

TABLEAU N° 6

SULFATE D'HYOSCIAMINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactério- statique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	8	0	0	0	7,50	0,28
	7	0	0	++		
	6	++				
B. pyocyannique	6	0	0	0	5,50	0,22
	5	++				
Colibacille	7	0	0	0	6,50	0,32
	6	++				
B. mesentericus	5	0	0	0	4,50	0,28
	4	0	+	++		
	3	++				
B. proteus	7	0	0	0	6,50	0,32
	6	+	++			
	5	++				
B. typhique	7	0	0	0	6,50	0,26
	6	+	++			
	5	++				
Pneumobacille	10	++			> 10	
B. de Shiga	5	0	0	0	4,50	0,27
	4	0	+	++		
	3	++				

TABLEAU N° 7

CHLORHYDRATE DE COCAINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	++			> 10	
B. pyocyane	10	0	++		> 10	
	9	0	++			
	8	++				
Colibacille	10	0	++		> 10	
	9	0	++			
	8	++				
B. mesentericus	6	0	0	0		
	5	+	++		5,50	0,22
	4	+	++			
	3	++				
B. proteus	10	+	+	++	> 10	
	7	+	++			
	6	++				
B. typhique	9	0	0	0		
	8	0	0	++	8,50	0,20
	7	0	+	++		
	6	+	++			
	5	+	++			
	4	++				
Pneumobacille	10	0	+	++	> 10	
	9	0	+			
	7	+	++			
	6	++				
B. de Shiga	6	0	0	0	5,50	0,22
	5	+	++			
	4	++				

CONCLUSION - En résumé les alcaloïdes du groupe du tropane ne possèdent que peu ou pas d'action sur les bactéries mises en expérience. La sulfate d'hyosciamine qui est le plus actif des alcaloïdes de ce groupe, est de trois à cinq fois moins actif que le phénol.

IV - GROUPE DU NOR LUPINANE

SULFATE DE SPARTEINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur le Staphylocoque, le Colibacille, le B. mesentericus et le Pneumobacille. Le B. typhique est ralenti dans son développement avec des concentrations variant de 6 à 10 grammes par litre.

Nous avons pu déterminer les doses antigénétiques du sulfate de spartéine vis-à-vis du B. pyocyane, du B. proteus et du B. de Shiga. Elles sont respectivement de 6,50, 7,50 et 2,50 grammes par litre. L'action de ce produit sur ces trois dernières bactéries est donc de deux à cinq fois plus faible que celle du phénol.

V - GROUPE DE L'INDOL

SULFATE D'ESERINE -

A une concentration de 5 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur les huit bactéries mises en expérience.

CHLORHYDRATE DE BRUCINE -

Nous n'avons eu en notre possession qu'une faible quantité de ce produit. La dose la plus forte que nous avons pu étudier est 2 grammes par litre ; à cette concentration le chlorhydrate de brucine ne possède aucune activité sur sept des bactéries mises en expérience. Seul le B. de Shiga est retardé dans son développement par cette concentration.

Les autres alcaloïdes du groupe de l'indol possèdent une certaine activité. Nous donnons en détail les résultats obtenus au cours de notre étude de ces différents produits.

TABLEAU N° 8

CHLORHYDRATE D'YOHIMBINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	4,50	0	0	0	4,25	0,50
	4	0	0	++		
	3	++				
B. pyocyane	10	++			> 0,10	
Colibacille	2,50	0	0	0	2,25	1
	2	++				
B. mesentericus	1,50	0	0	0	1,25	1
	1	+	++			
	0,80	+	++			
	0,50	++				
B. proteus	5	0	0	0	4,50	0,50
	4	0	+	+		
	3	+	++			
	2	++				
B. typhique	2,50	0	0	0	2,25	0,77
	2	0	+	++		
	1	++				
Pneumobacille	4	0	0	0	3,50	0,64
	3	++				
B. de Shiga	2	0	0	0	1,75	0,70
	1,50	0	++			
	1	+	++			
	0,50	++				

TABLEAU N° 9

CHLORHYDRATE DE CORYNANTHINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	3	0	0	0	2,50	0,86
	2	+	++			
	1	++				
B. pyocyaneus	10	++				
Colibacille	2	0	0	0	>10	1,28
	1,50	+	++		1,75	
	1	++				
B. mesentericus	2	0	0	0	1,50	0,83
	1	0	+	++		
	0,50	++				
B. proteus	4	0	0	0	3,50	0,64
	3	0	+	++		
	2	+	++			
	1	++				
B. typhique	1,50	0	0	0	1,25	1,40
	1	++				
Pneumobacille	4	0	0	0	3,50	0,64
	3	0	++			
	2	++				
B. de Shiga	1,50	0	0	0	1,25	1
	1	+	+	++		
	0,50	++				

TABLEAU N° 10

CHLORHYDRATE D'HARMINE (concentration en base)

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	0,40	0	0	0	0,30	7,1
	0,20	++				
B. pyocyane	0,50	0	0	0	0,45	2,80
	0,40	+	++			
	0,20	++				
Colibacille	0,40	0	0	0	0,30	7,5
	0,20	0	+	+		
	0,10	++				
B. mesentericus	0,40	0	0	0	0,30	4
	0,20	0	0	++		
	0,10	++				
B. proteus	0,40	0	0	0	0,30	7,5
	0,20	0	+	++		
	0,10	++				
B. typhique	0,20	0	0	0	0,15	11,6
	0,10	+	+			
	0,05	++				
Pneumobacille	0,40	0	0	0	0,30	7,5
	0,20	+	++			
	0,10	++				
B. de Shiga	0,10	0	0	0	0,075	16,6
	0,05	0	+	++		
	0,02	++				

TABLEAU N° 11

SULFATE DE STRYCHNINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique. (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	0	0	+		
	9	0	++		>10	
	7	+	++			
	6	+	++			
	5	++	++			
B. pyocyane	10	++			>10	
Colibacille	5	0	0	0		
	4	0	±	++	4,50	0,5
	3	+	++			
	2	++				
B. mesentericus	5	0	0	0	4,50	0,28
	4	+	++			
	2	+	++			
	1	++				
B. proteus	6	0	0	0		
	5	0	0	+	5,50	0,4
	4	0	+	++		
	3	+	++			
	2	++				
B. typhique	4	0	0	0	3,50	0,5
	3	0	++			
	2	++				
Pneumobacille	7	0	0	0	6,50	0,6
	6	+	++			
	5	++				
B. de Shiga	4	0	0	0		
	3	+	++		3,50	0,35
	2	++				

TABLEAU N° 12

CHLORHYDRATE D'IBOGAINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	2	0	0	0	1,50	1,40
	1	0	++			
	0,50	++				
B. pyocyane	2	0	0	0	1,50	0,9
	1	+	++			
	0,50	++				
Colibacille	2	0	0	0	1,50	1,50
	1	0	++			
	0,50	++				
B. mesentericus	0,50	0	0	0	0,35	3,50
	0,20	++				
B. proteus	2	0	0	0	1,50	1,50
	1	+	++			
	0,50	++				
B. typhique	1	0	0	0	0,75	2,3
	0,50	++				
Pneumobacille	2	0	0	0	1,50	1,50
	1	+				
	0,50	++				
B. de Shiga	1	0	0	0	0,75	1,6
	0,50	0	0	+		
	0,20	+	++			
	0,10	+	++			
	0,05	++				

TABLEAU N° 13

TABLEAU RECAPITULATIF DES DOSES ANTIGENETIQUES
DES ALCALOÏDES A NOYAU INDOLIQUE
(en grammes par litre)

	Staphy- locoque	B.pyo- cyaniq.	Coli- bacille	B.mesen- tericus	B. proteus	B.ty- phique	Pneumo- bacille	B. de Shiga
Chlorhydrate d'harmina (conc.en base)	0,30	0,45	0,30	0,30	0,30	0,15	0,30	0,075
Chlorhydrate d'ibogaïne	1,50	1,50	1,50	0,35	1,50	0,75	1,50	0,75
Chlorhydrate de corynanthine	2,50	>10	1,75	1,50	3,50	1,25	3,50	1,25
Chlorhydrate d'yohimbine	4,25	>10	2,25	1,25	4,50	2,25	3,50	1,75
Sulfate de strychnine	>10	>10	4,50	4,50	5,50	3,50	6,50	3,50
Chlorhydrate de brucine (conc.en base)	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2	>2
Sulfate d'ésérine	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5

CONCLUSION - Il nous a paru intéressant de comparer dans un tableau récapitulatif les doses antigénétiques des alcaloïdes de ce groupe. En effet, si trois de ces produits se montrent peu ou pas actifs sur le développement des bactéries, par contre les quatre autres : harmine, ibogaïne, corynanthine et yohimbine ont une action bactériostatique intéressante.

Le chlorhydrate d'yohimbine et le chlorhydrate de corynanthine sont un peu moins ou aussi actifs que le phénol selon les bactéries mises en expérience.

Le chlorhydrate d'harmine est de beaucoup le plus actif puisque son action est de trois à seize fois plus importante que celle du phénol.

Le chlorhydrate d'ibogaïne est de une à trois fois plus actif que le phénol.

VI - GROUPE DE LA QUINOLEINE

TABLEAU N°14

CHLORHYDRATE DE QUININE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	3	0	0	0	2,50	0,86
	2	0	+	+		
	1	++	-			
B. pyocyane	8	0	0	0	7,50	0,15
	7	0	++			
	3	0	-			
	2	++				
Colibacille	2	0	0	0	1,50	1,50
	1	0	++			
	0,50	+	++			
	0,20	++				
B. mesentericus	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	++				
B. proteus	2	0	0	0	1,50	1,5
	1	+	++			
	0,50	+	++			
	0,20	++				
B. typhique	1	0	0	0	0,75	2,3
	0,50	+	++			
	0,25	++				
Pneumobacille	2	0	0	0	1,50	1,5
	1	+	++			
	0,50	++				
B. de Shiga	1	0	0	0	0,75	1,6
	0,50	0	+	++		
	0,20	++	-			

CONCLUSION - Le chlorhydrate de quinine possède un pouvoir antigénétique assez important. Il est de une fois à trois fois et demie plus actif que le phénol selon les bactéries sur lesquelles il agit. Il est cependant moins actif que ce produit sur le bacille pyocyane.

VII - GROUPE DE L'ISOQUINOLEINE

CHLORHYDRATE DE PAPAVERINE -

La faible solubilité de ce produit dans le milieu de culture ne nous a pas permis de l'étudier à des concentrations supérieures à 1 gramme par litre. A cette concentration le chlorhydrate de papavérine ne possède aucune activité sur les bactéries mises en expérience.

CHLORHYDRATE DE NARCEINE -

Ce produit est également très peu soluble, la plus forte concentration que nous avons pu étudier est 1 gramme par litre ; à cette concentration le chlorhydrate de narcéine ne possède aucune activité sur les huit bactéries mises en expérience.

SULFATE DE MESCALINE -

A une concentration de 5 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur les bactéries mises en expérience.

CHLORHYDRATE DE NARCOTINE -

Ce produit est insoluble dans le milieu à l'autolysat de levure, nous l'avons étudié par la méthode des stries sur gélose. A une concentration de 10 grammes par litre il n'a aucune activité sur le Staphylocoque, le Colibacille, le B.mesentericus et le Pneumobacille. Cette concentration arrête le développement du B.pyocyanique, du B.proteus, du B.typhique et du B.de Shiga, pour lesquels nous avons déterminé les doses bactériostatiques de cet alcaloïde, qui sont respectivement de 9,50 g. par litre pour les trois premiers bacilles et de 8,50 grammes par litre pour le B. de Shiga.

DEXTRO-TUBOCURARINE -

Nous n'avons eu en notre possession que quelques centigrammes de ce produit, ce qui nous a permis de conclure qu'à une concentration de 2 grammes par litre cet alcaloïde n'entrave pas le développement du Staphylocoque tandis que cette même concentration arrête totalement le développement du Bacille mesentericus.

Les autres alcaloïdes du groupe de l'isoquinoléine possèdent une certaine activité vis-à-vis des bactéries que nous avons mises en expérience. Nous donnons dans les tableaux ci-dessous les résultats obtenus dans l'étude de ces différents produits.

TABLEAU N° 15

CHLORHYDRATE DE CEPHELINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	6	0	0	0	5,50	0,4
	5	±	++			
	4	±	++			
	3	++				
B. pyocyanique	10	++			>10	
Colibacille	6	0	0	0	5,50	0,4
	5	0	+	++		
	2	±	++			
	1	++				
B. mesentericus	2	0	0	0	1,50	0,83
	1	+	+	++		
	0,50	++				
B. proteus	5	0	0	0	4,50	0,50
	4	0	++			
	3	+	++			
	2	++				
B. typhique	3	0	0	0	2,50	0,70
	2	0	++			
	1	++				
Pneumobacille	7	0	0	0	6,50	0,34
	6	0	0	+		
	5	0	++			
	4	+	++			
	3	++				
B. de Shiga	0,80	0	0	0	0,65	2
	0,50	0	++			
	0,20	++				

TABLEAU N° 16

CHLORHYDRATE D'EMETINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	0	0	++	> 10	
	9	0	++			
	8	+	++			
	7	++				
B. pyocyane	10	+	++		> 10	
	9	++				
Colibacille	4	0	0	0	3,50	0,6
	3	0	0	+		
	2	++				
B. mesentericus	1	0	0	0	0,75	1,5
	0,50	+	++			
	0,20	++				
B. proteus	10	0	0	+	> 10	
	8	0	+	++		
	7	0	++			
	5	0	++			
	4	+	++			
	3	+	++			
	2	++				
B. typhique	3	0	0	0	2,50	0,7
	2	+	++			
	1	++				
Pneumobacille	10	0	0	0	9,50	0,25
	9	0	0	++		
	6	+	++			
	5	++				
B. de Shiga	2	0	0	0	1,50	0,8
	1	+	++			
	0,50	++				

TABLEAU N° 17

CHLORHYDRATE D'HYDRASTINE (concentration en base)

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	8	0	0	0	7,50	0,28
	7	0	++			
	6	+	++			
	5	++				
B. pyocyane	3	0	0	0	2,50	0,50
	2	++				
Colibacille	5	0	0	0	4,50	0,50
	4	0	+	++		
	3	+	++			
	2	++				
B. mesentericus	5	0	0	0	4,50	0,27
	4	0	+	++		
	3	0	++			
	2	++				
B. proteus	5	0	0	0	4,50	0,50
	4	0	0	++		
	3	++				
B. typhique	4	0	0	0	3,50	0,50
	3	0	0	++		
	2	++				
Pneumobacille	7	0	0	0	6,50	0,34
	6	0	++			
	5	+	++			
	4	++				
B. de Shiga	2	0	0	0	1,50	0,8
	1	++				

TABLEAU N° 18

SULFATE DE BERBERINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	0,40	0	0	0	0,35	6,1
	0,30	0	++			
	0,10	+	++			
	0,05	++				
B. pyocyane	3	0	0	0	2,50	0,5
	2	++				
Colibacille	2	0	0	0	1,50	1,5
	1	+	++			
	0,50	++				
B. mesentericus	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	++				
B. proteus	4	0	0	0	3,50	0,6
	3	0	0	++		
	2	+	+	++		
	1	++				
B. typhique	4	0	0	0	3,50	0,5
	3	0	+	++		
	2	+	++			
	1	++				
Pneumobacille	6	0	0	0	5,50	0,4
	5	0	0	+		
	4	0	+	++		
	3	+	++			
	2	++				
B. de Shiga	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	0	+	++		
	0,10	++				

TABLEAU N° 19

ACETATE D'ISOTETRANDRINE (concentration en base)

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	1	0	0	0	0,75	2,8
	0,50	0	0	+		
	0,20	++				
B. pyocyane	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	0	++			
	0,10	++				
Colibacille	0,40	0	0	0	0,30	7,50
	0,20	+	++			
	0,10	++				
B. mesentericus	0,40	0	0	0	0,30	4,1
	0,20	+	+	++		
	0,10	++				
B. proteus	0,40	0	0	0	0,30	7,5
	0,20	+	++			
	0,10	++				
B. typhique	0,40	0	0	0	0,30	5,8
	0,20	0	+	++		
	0,10	++				
Pneumobacille	0,40	0	0	0	0,30	7,5
	0,20	++				
B. de Shiga	0,20	0	0	0	0,15	8,3
	0,10	+	+	++		
	0,05	++				

TABLEAU N° 20

CHLORHYDRATE DE CEPHARANTHINE (concentration en base)

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	2	0	0	0	1,50	1,4
	1	0	++			
	0,50	+	++			
	0,20	++				
B. pyocyane	1	+	++		> 1	
	0,50	++				
Colibacille	0,50	0	0	0	0,35	6,4
	0,20	++				
B. mesentericus	0,10	0	0	0	0,075	16,5
	0,05	0	+			
	0,02	++				
B. proteus	2	0	0	0	1,50	1,5
	1	0	++			
	0,50	++				
B. typhique	1	0	0	0	0,75	2,3
	0,50	0	++			
	0,20	++				
Pneumobacille	1	0	0	0	0,75	3
	0,50	++				
B. de Shiga	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	+	++			
	0,10	++				

TABLEAU N° 21

TABLEAU RECAPITULATIF DES DOSES ANTIGENETIQUES

DES ALCALOÏDES DU GROUPE DE L'ISOQUINOLÉINE

(Doses bactériostatiques en g. par litre)

Alcaloïde	Staphy- locoque	B. pyo- cyanig.	Coli- bacille	B. mesen- tericus	B. proteus	B. ty- phique	Pneumo- bacille	B. de Shiga
Acétate d'iso- tétrandrine (conc. en base)	0,75	0,35	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,15
Chlorhydrate de cépharanthine (conc. en base)	1,50	>1	0,35	0,075	1,50	0,75	0,75	0,35
Sulfate de berbérine	0,35	2,50	1,50	0,35	3,50	3,50	5,50	0,35
Chlorhydrate de céphéline	5,50	>10	5,50	1,50	4,50	2,50	6,50	0,65
Chlorhydrate d'hydrastine	7,50	2,50	4,50	4,50	4,50	3,50	6,50	1,50
Chlorhydrate d'émétine	> 10	>10	3,50	0,75	>10	2,50	9,50	1,50
Chlorhydrate de papavérine	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
Chlorhydrate de narcéine	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1	>1
Sulfate de mescaline	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Chlorhydrate de narcotine	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

CONCLUSION - Parmi les alcaloïdes du groupe de l'isoquinoléine, trois produits ont une action antigénétique assez importante : l'acétate d'isotétrandrine, le chlorhydrate de cépharanthine et le sulfate de berbérine. Leur action est variable d'une bactérie à l'autre. L'acétate d'isotétrandrine est de trois à huit fois plus actif que le phénol ; le chlorhydrate de cépharanthine de une à seize fois plus actif et le sulfate de berbérine deux fois moins actif que le phénol sur certaines bactéries, est six fois plus actif que ce produit sur le Staphylocoque.

Parmi les autres alcaloïdes de ce groupe, le chlorhydrate de céphéline, le chlorhydrate d'hydrastine et le chlorhydrate d'émétine

possèdent un certain pouvoir bactériostatique, leur action est cependant moins importante que celle du phénol.

Nous n'avons pu déterminer de doses antigénétiques pour le chlorhydrate de papavérine, le chlorhydrate de narcéine, le sulfate de mescaline et le chlorhydrate de narcotine. Pour les deux premiers produits nous avons été gênée par leur faible solubilité dans les milieux de culture. Nous n'avons poussé l'étude du sulfate de mescaline que jusqu'à une concentration de cinq grammes par litre par suite de la quantité relativement faible de produit que nous avons eu en notre possession. Le chlorhydrate de narcotine a été étudié jusqu'à une concentration de dix grammes par litre ; à cette concentration il s'est montré inactif ou très peu actif vis-à-vis des bactéries que nous avons mises en expérience.

VIII - GROUPE DU PHENANTHRENE

CHLORHYDRATE DE MORPHINE -

A une concentration de 20 grammes par litre cet alcaloïde ne possède aucune activité sur les bactéries suivantes : Staphylocoque, B.pyocyannique, Colibacille et B.proteus. Nous n'avons étudié ce produit que jusqu'à une concentration de 10 grammes par litre vis-à-vis des autres bactéries : B.mesentericus, B.typhique, Pneumobacille et B.de Shiga qui n'ont subi aucun retard dans leur développement en présence de cet alcaloïde.

PHOSPHATE DE CODEINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur sept des bactéries mises en expérience. Seul le B.de Shiga est arrêté dans son développement par la présence de 5,50 grammes de phosphate de codéine par litre de milieu de culture.

DIONINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde n'a aucune activité sur les bactéries suivantes : Staphylocoque, B.pyocyannique, Colibacille, B.mesentericus et B.typhique. La même concentration ralentit sans l'arrêter le développement du Pneumobacille, du B.proteus et du B. de Shiga.

HEROINE -

A une concentration de 10 grammes par litre cet alcaloïde ne possède aucune activité sur les bactéries suivantes : Staphylocoque, B.pyocyannique, B.proteus et Pneumobacille. La même concentration ralentit sans l'arrêter le développement du B.mesentericus. Nous avons pu déterminer les doses bactériostatiques de l'héroïne vis-à-vis des trois bactéries suivantes : Colibacille, B.typhique et B.de Shiga ; ces doses sont respectivement : 9,50, 6,50 et 5,50 grammes par litre de milieu de culture.

En ce qui concerne le chlorhydrate de boldine et le chlorhydrate d'apomorphine nous donnerons en détail les concentrations étudiées et les résultats obtenus pour chacune (Tableaux n° 22 et 23).

TABLEAU N° 22

CHLORHYDRATE DE BOLDINE (concentration en base)

Ce produit était cristallisé avec 13,37 % de chloroforme, cette faible quantité n'entravait pas le développement des bactéries dans les conditions de l'essai.

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	0	0	++	> 10	
	5	0	+	++		
	4	++	+			
B. pyocyanique	10	++			> 10	
Colibacille	2	0	0	0	1,50	1,50
	1	++				
B. mesentericus	2	0	0	0	1,50	0,83
	1	++				
B. proteus	6	0	0	0	5,50	0,40
	5	0	0	++		
	3	+	++			
	2	++				
B. typhique	3	0	0	0	2,50	0,70
	2	0	+	+		
	1	++				
Pneumobacille	3	0	0	0	2,50	0,90
	2	++				
B. de Shiga	3	0	0	0	2,50	0,50
	2	0	0	+		
	1	0	0	++		
	0,50	++				

TABLEAU N° 23

CHLORHYDRATE D'APOMORPHINE

Ce produit a été étudié par la méthode des stries, car il donne avec le milieu synthétique un précipité coloré, qui se forme après quelques heures et qui masque le développement de la culture microbienne.

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	0,10	0	0	0	0,075	28
	0,05	±	++			
	0,02	++				
B. pyocyane	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	++				
Colibacille	0,50	0	0	0	0,35	3,5
	0,20	++				
B. mesentericus	1	0	0	0	0,75	2
	0,50	++				
B. proteus	0,20	0	0	0	0,15	11,6
	0,10	++				
B. typhique	0,50	0	0	0	0,35	5
	0,20	++				
Pneumobacille	0,50	0.	0	0	0,35	5
	0,20	++				
B. de Shiga	0,005	0	0	0	0,035	35,7
	0,002	++				

CONCLUSION - Les alcaloïdes à noyau phénanthrénique, à l'exception du chlorhydrate d'apomorphine, ne possèdent qu'une action très peu importante sur les bactéries étudiées. Leur présence dans le milieu de culture ralentit le développement des bactéries sans l'inhiber totalement.

Le chlorhydrate d'apomorphine, par contre, inhibe le développement des bactéries à une concentration de 1 pour 1500 à 1 pour 30.000. Il est, de ce fait, de 2 à 35 fois plus actif que le phénol, selon les bactéries.

IX - GROUPE DE LA NAPHTOPHENANTHRIDINE

CHLORHYDRATE DE CHELIDONINE

Cet alcaloïde est peu soluble dans l'eau et dans le milieu de culture; nous n'avons pu l'étudier qu'à une concentration de 1 gramme par litre, concentration exprimée en alcaloïde base. Il n'a manifesté aucune activité vis-à-vis des bactéries mises en expérience.

NITRATE DE SANGUINARINE

Le nitrate de sanguinarine étant insoluble dans le milieu de culture à l'autolysat de levure, a été étudié par la méthode des stries sur gélose. A une concentration de 1 gramme par litre de bouillon gélosé, il ne possède aucune activité sur les bactéries suivantes : B.pyocyane, Colibacille, B.proteus, B.typhique et Pneumobacille. Par contre, nous avons pu déterminer les doses bactériostatiques de ce produit vis-à-vis des trois bactéries suivantes : Staphylocoque, B.mesentericus et B.de Shiga. Ces doses sont : 0,045 gramme par litre pour les deux premières et 0,15 gramme par litre pour le B.de Shiga. Ce produit est donc cinquante fois plus actif que le phénol sur le Staphylocoque, trente trois fois plus actif sur le B.mesentericus et seulement huit fois plus actif que cet antiseptique sur le B. de Shiga.

X- GROUPE DE LA GLYOXALINE

NITRATE DE PILOCARPINE

A une concentration de 10 grammes par litre de milieu de culture cet alcaloïde ne possède aucune activité sur les bactéries suivantes : B.pyocyanique, B.mesentericus, B.typhique, Pneumobacille et B. de Shiga. En ce qui concerne le Staphylocoque et le Colibacille nous avons poussé l'étude de ce produit jusqu'à une concentration de 20 grammes par litre sans obtenir de ralentissement dans le développement de ces deux bactéries. Par contre, le B.proteus est ralenti dans son développement qui n'est cependant pas arrêté totalement.

THEOPHYLLINE

La faible solubilité de ce produit ne nous a permis de l'étudier qu'à une concentration de 2 grammes par litre, il n'a manifesté aucune activité sur les différentes bactéries mises en expérience.

En ce qui concerne la CAFEINE et la THEOBROMINE nous donnerons en détail les résultats obtenus dans l'étude des différentes concentrations, car, si ces produits ne possèdent pas un pouvoir bactériostatique très intéressant, ils ralentissent cependant le développement de certaines bactéries de façon assez appréciable.

TABEAU N° 24

CAFEINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	+++			>10	
B. pyocyanique	10	+++			>10	
Colibacille	8	0	0	0		
	6	+	++		7	0,32
	4	++				
B. mesentericus	10	0	0	0		
	8	+	+	++		0,14
	5	+	++			
	4	++				
B. proteus	10	0	0	0		
	8	0	+	++	9	0,25
	6	+	++			
	4	++				
B. typhique	5	0	0	0		
	4	0	+	++	4,50	0,38
	3	+	++			
	2	++				
Pneumobacille	10	0	0	+		
	8	+	++		>10	
	6	++				
B. de Shiga	4	0	0	0		
	3	+	++		3,50	0,35
	2	+	++			
	1	++				

TABLEAU N° 25

THEOBROMINE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	9	0	0	0	8,50	0,25
	8	0	+	++		
	7	++				
B. pyocyane	8	0	0	0	7,50	0,16
	7	+	++			
	6	++				
Colibacille	8	0	0	0	7,50	0,30
	7	++				
B. mesentericus	10	0	0	+	>10	
	9	0	+	++		
	8	+	++			
	7	++				
B. proteus	10	0	+	++	>10	
	9	+	++			
	8	++				
B. typhique	9	0	0	0	8,50	0,20
	8	0	+	++		
	7	++				
Pneumobacille	10	0	+	++	>10	
	9	++				
B. de Shiga	9	0	0	0	8,50	0,14
	8	0	+	++		
	7	++				

CONCLUSION - La faible solubilité de la théophylline et de la théobromine gêne les essais. La théobromine est solubilisée en milieu alcalin, à une concentration supérieure à cinq grammes par litre un léger précipité se forme dans le milieu de culture, ne gênant cependant pas la lecture des résultats. La théophylline n'a été étudiée qu'à une concentration de deux grammes par litre.

Les trois alcaloïdes du groupe de la Purine n'exercent pas une action bactériostatique très importante vis-à-vis des bactéries étudiées. La Caféine et la Théobromine ont approximativement la même action. Ils sont de 3 à 5 fois moins actifs que le phénol.

XII - NOVOCAINE ET SES SELS

Nous avons étudié la novocaïne et plusieurs sels : paraoxybenzoate, sébacate, benzoate, isobutyrate et phénylbutyrate de novocaïne. Ces différents produits se sont montrés peu actifs sur les bactéries mises en expérience. Seul le phénylbutyrate de novocaïne possède une certaine activité que nous avons pu déterminer. Nous indiquerons ces différents résultats dans le Tableau n°26. A une concentration de 10 g. par litre de milieu de culture les autres sels étudiés n'ont fait que retarder le développement des bactéries sans l'arrêter totalement.

TABLEAU N° 26

PHENYLBUTYRATE DE NOVOCAINE

	Concentration (g.par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g.par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	+	++		>10	
	9	++				
B.pyocyane	10	++			>10	
Colibacille	9	0	0	0	8,50	0,26
	8	0	+	++		
	5	+	++			
	4	++				
B.mesentericus	6	0	0	0	5,50	0,21
	5	0	+	++		
	2	+	+	++		
	1	++				
B.proteus	8	0	0	0	7,50	0,3
	7	0	0	+		
	4	+	++			
	3	++				
B.typhique	8	0	0	0	7,50	0,23
	7	0	0	+		
	6	0	+	+		
	5	+	++			
	4	++				
Pneumobacille	10	0	+	+	>10	
	8	0	+	+		
	7	+	++			
	6	++				
B.de Shiga	6	0	0	0	5,50	0,22
	5	0	+	+		
	4	0	++			
	3	++				

XIII - ALCALOÏDES N'ENTRANT DANS AUCUN DES GROUPES CI-DESSUS

NITRATE D'ACONITINE

Ce produit est peu soluble dans le milieu de culture. Nous avons pu l'étudier jusqu'à une concentration de 4 grammes par litre pour laquelle il ne possède aucune activité sur les bactéries mises en expérience.

CHLORHYDRATE DE ROTUNDINE

A une concentration de 2 grammes par litre, correspondant à la limite de solubilité dans le milieu de culture, cet alcaloïde ne possède aucune activité sur les bactéries suivantes : Staphylocoque, B.pyocyannique, Colibacille, B.proteus, B.typhique et Pneumobacille. La même concentration ralentit sans l'arrêter le développement de B.mesentericus et du B. de Shiga.

XANTHOFAGARINE

Ce produit a été étudié à l'état de base dont la solubilité dans l'eau est de 0,40 gramme par litre. 0,20 gramme de ce produit par litre de milieu de culture donne un léger précipité floconneux qui ne gêne cependant pas la lecture des résultats. A cette concentration cet alcaloïde ne possède aucune activité sur les bactéries suivantes : B.pyocyannique, Colibacille, B.proteus, B.typhique, Pneumobacille et B. de Shiga. Le Staphylocoque s'est trouvé retardé dans son développement par la présence dans le milieu de culture de l'alcaloïde à cette concentration. Par contre, nous avons pu déterminer la dose bactériostatique de la xanthofagarine vis-à-vis du Bacille mesentericus, 0,035 gramme par litre de milieu de culture arrête totalement le développement de ce bacille; la xanthofagarine est, de ce fait, trente cinq fois plus active que le phénol.

En ce qui concerne les autres alcaloïdes entrant dans ce groupe, nous indiquerons les résultats détaillés pour chacune des concentrations étudiées.

TABLEAU N° 27

CASSAINE - Etudiée à l'état de base solubilisée dans l'alcool dilué.
La quantité d'alcool nécessaire empêche pour certaines doses les bactéries de se développer. Des témoins renfermant des quantités variables d'alcool sont ajoutés à chaque série d'essais. Les résultats indiqués ci-dessous correspondent aux concentrations pour lesquelles l'alcool ne ralentit pas la culture microbienne.

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	3	0	0	0	2,50	0,86
	2	0	+	++		
	1,50	++				
B. pyocyane	2	0	0	0	1,50	0,9
	1	0	+	++		
	0,50	++				
Colibacille	2	++			>2	
B. mesentericus	2	0	0	+	>2	
	1,50	+	+	++		
	1	++				
B. proteus	2	+	+	++	>2	
	1,50	+	++			
	1	++				
B. typhique	2	0	0	0	1,75	1
	1,50	+	++			
	1	++				
Pneumobacille	2	+	++		>2	
	1,50	++				
B. de Shiga	1	0	0	0	0,75	1,6
	0,50	++				

TABLEAU N° 28

BROMHYDRATE DES ALCALOÏDES TOTAUX

DE L'HOLARRHÈNE

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	2	0	0	0	1,50	1,4
	1	+	+	++		
	0,50	++				
B. pyocyane	2	++			> 2	
Colibacille	1,50	0	0	0	1,25	1,8
	1	+	++			
	0,50	++				
B. mesentericus	1	0	0	0	0,75	1,66
	0,50	0	+	++		
	0,20	++				
B. proteus	2	++			> 2	
B. typhique	2	0	+	+	> 2	
	1	0	++	++		
	0,50	++				
Pneumobacille	2	++			> 2	
B. de Shiga	1	0	0	0	0,75	1,66
	0,50	+	++			
	0,20	++				

TABLEAU N° 29

STOVAINÉ

	Concentration (g.par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g.par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	9	0	0	0	8,50	0,25
	8	+	++			
	7	++				
B.pyocyane	5	0	0	0	4,50	0,28
	4	++				
Colibacille	4	0	0	0	3,50	0,7
	3	+	++			
	2	+	++			
	1	++				
B.mesentericus	6	0	0	0	5,50	0,2
	5	0	+	++		
	4	+	++			
	3	++				
B.proteus	4	0	0	0	3,50	0,6
	3	0	+	+		
	2	+	+	++		
	1	++				
B.typhique	4	0	0	0	3,50	0,50
	3	+	+	++		
	1	++				
Pneumobacille	6	0	0	0	5,50	0,4
	5	0	++			
	4	+	++			
	3	+	++			
	2	++				
	1					
B.de Shiga	1	0	0	0	0,90	1,4
	0,80	+	++			
	0,50	++				

TABLEAU N° 30

BROMHYDRATE DE CONESSINE

Staphylocoque)
B. pyocyane)
B. proteus)

Concentration maximum étudiée : 4 g. par litre
aucune activité.

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Colibacille	4	0	0	0	3,50	0,64
	3	0	+	++		
	2	++				
B. mesentericus	4	0	0	0	3,50	0,35
	3	0	+	++		
	2	+	++			
	1	++				
B. typhique	3	0	0	0	2,50	0,70
	2	++				
Pneumobacille	5	0	0	0	4,50	0,50
	4	0	++			
	3	++				
B. de Shiga	1	0	0	0	0,75	1,66
	0,50	0	0	++		
	0,25	++				

TABLEAU N° 31

CHLORHYDRATE DE VERATRINE

(concentration en base)

	Concentration (g. par litre)	Culture en :			Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
		24 h.	48 h.	72 h.		
Staphylocoque	10	++			> 10	
B. pyocyane	10	0	0	0	9	0,14
	8	++				
Colibacille	9	0	0	0	8,50	0,26
	8	++				
B. mesentericus	5	0	0	0	4,50	0,28
	4	0	+	++		
	2	++				
B. proteus	10	0	0	++	> 10	
	9	++				
B. typhique	10	0	+	++	> 10	
	8	++				
Pneumobacille	10	++			> 10	
B. de Shiga	5	0	0	0	4,50	0,28
	4	0	+	++		
	3	++				

TABLEAU N° 32

TABLEAU RECAPITULATIF DES DOSES ANTIGENETIQUES
DES ALCALOÏDES LES PLUS ACTIFS

(Doses antigénétiques en grammes par litre)

	Staphy- locoque	B. pyo- cyaniq.	Coli- bacille	B. mesen- tericus	B. proteus	B. ty- phique	Pneumo- bacille	B. de Shiga
Nitrate de sanguinarine	0,045	>1	>1	0,045	>1	>1	>1	0,15
Chlorhydrate d'apomorphine	0,075	0,35	0,35	0,75	0,15	0,35	0,35	0,035
Chlorhydrate d'harmine	0,30	0,45	0,30	0,30	0,30	0,15	0,30	0,075
Chlorhydrate de cépharanthine	1,50	>1	0,35	0,075	1,50	0,75	0,75	0,35
Acétate d'iso-tétrandrine	0,75	0,35	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,15
Sulfate de berbérine	0,35	2,50	1,50	0,35	3,50	3,50	5,50	0,35
Chlorhydrate d'ibogaïne	1,50	1,50	1,50	0,35	1,50	0,75	1,50	0,75
Bromhydrate des alcal. totaux de l'Holarrhène	1,50	>2	1,25	0,75	>2	>2	>2	0,75
Chlorhydrate de quinine	2,50	7,50	1,50	0,35	1,50	0,75	1,50	0,75
Xanthofagarine	— 0,20	>0,20	>0,20	>0,20	>0,20	>0,20	>0,20	>0,20

Nous voyons, d'après ce tableau, que les alcaloïdes qui possèdent une certaine action antigénétique n'appartiennent pas tous à un même groupe chimique. Cependant, ceux que nous citons peuvent être rattachés à cinq groupes : groupes des alcaloïdes à noyau quinoléique et à noyau isoquinoléique, groupes du phénanthrène et de la naphthophénanthridine et groupe de l'indol. Dans chacun de ces groupes, par contre, tous les alcaloïdes de même noyau ne sont pas tous actifs sur les bactéries.

Le groupe des alcaloïdes à noyau phénanthrénique nous donne l'apomorphine, un des alcaloïdes les plus actifs sur les bactéries mises en expérience, tandis que des produits de constitution voisine tels que la morphine, la codéine n'ont aucune activité.

Le groupe des alcaloïdes à noyau isoquinoléique nous fournit

l'isotétrandrine, la céphéline et la berbérine qui sont bactériostatiques; par contre, dans le même groupe la mescaline et la narcotine ne possèdent aucune activité.

Le groupe des alcaloïdes à noyau indolique nous fournit l'harmine qui est parmi les plus actifs de nos produits tandis que, dans le même groupe, l'ésérine n'a aucune activité sur les bactéries.

Nous voyons, d'autre part, d'après le tableau ci-dessus, que les produits alcaloïdiques possèdent une certaine spécificité : le nitrate de sanguinarine est cinquante fois plus actif que le phénol sur le Staphylocoque, trente trois plus actif sur le Bacille mesentericus et seulement huit fois plus actif à l'égard du Bacille de Shiga.

Le chlorhydrate d'apomorphine est de deux à cinq fois plus actif que le phénol sur certaines bactéries, mais vingt-huit fois plus actif sur le Staphylocoque et trente cinq fois plus actif que cet antiseptique sur le Bacille de Shiga.

L'acétate d'isotétrandrine est de trois à huit fois plus actif que le phénol.

Le sulfate de berbérine, deux fois moins actif que le phénol sur certaines bactéries, est jusqu'à six fois plus actif sur d'autres.

Le chlorhydrate d'ibogaïne est de une à quatre fois plus actif que le phénol.

Le bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'Holarrhène est à peu près aussi actif que le phénol.

La xanthofagarine, dont nous n'avons pu déterminer la dose antigénétique que vis-à-vis du Bacille mesentericus, est trente cinq fois plus actif que le phénol sur ce bacille.

Dans les Tableaux ci-dessous nous donnons les résultats obtenus pour chaque bactérie mise en expérience.

Les alcaloïdes les plus actifs sont indiqués les premiers avec, pour chacun, leur dose antigénétique en grammes par litre et leur index phénolique ; pour les produits dont nous n'avons pas pu déterminer de dose antigénétique, nous indiquons la plus forte concentration étudiée.

Rappelons que les doses bactériostatiques que nous indiquons sont obtenues en faisant la moyenne entre la plus forte concentration étudiée qui n'a pas inhibé le développement microbien et la plus faible des concentrations qui a empêché ce développement pendant trois jours.

. :

TABLEAU N° 33

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOÏDES
sur STAPHYLOCOCCUS AUREUS (Souche +)

A l c a l o ï d e	Dose bactério- statique (g. par litre)	Index phénolique
Nitrate de sanguinarine _____ :	0,045	50
Chlorhydrate d'apomorphine _____	0,075	28
Chlorhydrate d'harmine (conc. en base) _____	0,30	7,1
Sulfate de berbérine _____	0,35	6,1
Acétate d'isotétrandrine (conc. en base) _____	0,75	2,8
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc. en base) _____	1,50	1,4
Chlorhydrate de cépharanthine (conc. en base) _____	1,50	1,4
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène _____	1,50	1,4
Cassaine (base) _____	2,50	0,86
Chlorhydrate de quinine _____	2,50	0,86
Chlorhydrate de corynanthine _____	2,50	0,86
Chlorhydrate d'yohimbine _____	4,25	0,50
Chlorhydrate de céphéline _____	5,50	0,39
Chlorhydrate d'hydrastine (conc. en base) _____	7,50	0,28
Sulfate d'hyosciamine (conc. en base) _____	7,50	0,28
Nicotine _____	8,50	0,25
Théobromine _____	8,50	0,25
Stovaine _____	8,50	0,25
Xanthofagarine (base) _____	> 0,20	
Chlorhydrate de papavérine _____	> 1	
Chlorhydrate de chélidonine (conc. en base) _____	> 1	
Chlorhydrate de lobeline _____	> 1	
Chlorhydrate de narcéine _____	> 1	
Dextro-tubocurarine _____	> 2	
Chlorhydrate de rotundine _____	> 2	
Théophylline _____	> 2	
Anabasine _____	> 2	

A l c a l o i d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Bromhydrate de brucine (conc. en base)	> 2
Nitrate d'aconitine	> 4
Bromhydrate de conessine	> 4
Sulfate d'ésérine	> 5
Sulfate d'hordénine	> 5
Sulfate de mescaline	> 5

A une concentration de 10 grammes par litre, les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement.

Héroïne	Bromhydrate de cicutine
Caféine	Bromhydrate d'arécoline
Chlorhydrate d'émétine	Sulfate d'atropine
Chlorhydrate de cocaïne	Chlorhydrate de boldine
Chlorhydrate de morphine	Chlorhydrate de narcotine
Nitrate de pilocarpine	Sulfate de strychnine
Phosphate de codéine	Novocaïne
Dionine	Benzoate de novocaïne
Chlorhydrate d'éphédrine	Paraoxybenzoate de novocaïne
Bromhydrate de scopalamine	Isobutyrate de novocaïne
Colchicine	Phénylbutyrate de novocaïne
Chlorhydrate de vératrine	Sébacate de novocaïne
Sulfate de spartéine	

TABLEAU N° 34

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOÏDES
sur PSEUDOMONAS AERUGINOSA (Souche 1)

<u>A l c a l o ï d e</u>	<u>Dose bactério- statique (g. par litre)</u>	<u>Index phénolique</u>
Chlorhydrate d'apomorphine	0,35	3,5
Acétate d'isotétrandrine (conc.en base)	0,35	3,5
Chlorhydrate d'harmine (conc.en base)	0,45	2,80
Cassaine (base)	1,50	0,9
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc.en base)	1,50	0,9
Sulfate de berberine	2,50	0,5
Chlorhydrate d'hydrastine (conc.en base)	2,50	0,5
Stovaïne	4,50	0,28
Sulfate d'hyosciamine (conc.en base)	5,50	0,22
Sulfate de spartéine	6,50	0,20
Nicotine	6,50	0,20
Théobromine	7,50	0,16
Chlorhydrate de quinine	7,50	0,16
Chlorhydrate de vératrine (conc.en base)	9	0,14
Chlorhydrate de narcotine	9,50	0,13
Xanthofagarine (base)	> 0,20	
Chlorhydrate de lobéline	> 1	
Chlorhydrate de cépharanthine (conc.en base)	> 1	
Chlorhydrate de narcéine	> 1	
Nitrate de sanguinarine	> 1	
Chlorhydrate de papavérine	> 1	
Chlorhydrate de chélidonine (conc.en base)	> 1	
Chlorhydrate de rotundine	> 2	
Chlorhydrate de brucine (conc.en base)	> 2	
Anabasine	> 2	
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène	> 2	
Théophylline	> 2	

A l c a l o ï d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Bromhydrate de conessine	> 4
Nitrate d'aconitine	> 4

A une concentration de 5 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité :

Sulfate d'ésérine
Sulfate de mescaline
Sulfate d'hordénine.

A une concentration de 10 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement :

Chlorhydrate de cocaïne	Chlorhydrate de céphéline
Chlorhydrate d'émétine	Bromhydrate d'arécoline
Sulfate d'atropine	Chlorhydrate d'yohimbine
Chlorhydrate d'éphédrine	Héroïne
Chlorhydrate de boldine	Chlorhydrate de corynanthine
Chlorhydrate de morphine	Novocaïne
Bromhydrate de scopolamine	Benzoate de novocaïne
Phosphate de codéine	Paraoxybenzoate de novocaïne
Dionine	Isobutyrate de novocaïne
Nitrate de pilocarpine	Sébacate de novocaïne
Caféine	Phénylbutyrate de novocaïne
Bromhydrate de cicutine	
Sulfate de strychnine	
Colchicine	

TABLEAU N° 35

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOÏDES
sur ESCHERICHIA COLI SAMET -

A l c a l o ï d e	Dose bactério- statique (g. par litre)	Index phénolique
Chlorhydrate d'harmine (conc.en base) -----	0,30	7,5
Acétate d'isotétrandrine (conc.en base)-----	0,30	7,5
Chlorhydrate de cépharanthine (conc.en base)-----	0,35	6,4
Chlorhydrate d'apomorphine-----	0,35	3,5
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène-----	1,25	1,8
Chlorhydrate de quinine-----	1,50	1,5
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc.en base)-----	1,50	1,5
Sulfate de berberine -----	1,50	1,5
Chlorhydrate de boldine (conc.en base)-----	1,50	1,5
Chlorhydrate de corynanthine -----	1,75	1,28
Chlorhydrate d'yohimbine -----	2,25	1
Bromhydrate de conessine-----	3,50	0,6
Stovaïne -----	3,50	0,6
Chlorhydrate d'émétine-----	3,50	0,6
Chlorhydrate d'hydrastine (conc.en base)-----	4,50	0,5
Sulfate de strychnine-----	4,50	0,5
Chlorhydrate de céphéline-----	5,50	0,4
Caféïne-----	7	0,32
Sulfate d'hyosciamine (conc.en base)-----	6,50	0,32
Nicotine-----	7,50	0,30
Théobromine-----	7,50	0,30
Phénylbutyrate de novocaïne -----	8,50	0,26
Chlorhydrate de vératrine (conc.en base)-----	8,50	0,26
Héroïne -----	9,50	0,23
Xanthofaggrine -----	> 0,20	
Chlorhydrate de papavérine -----	> 1	
Chlorhydrate de lobéline-----	> 1	

A l c a l o i d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Nitrate de sanguinarine	> 1
Chlorhydrate de narcéine	> 1
Chlorhydrate de chélidonine (conc. en base)	> 1
Chlorhydrate de brucine (conc. en base)	> 2
Chlorhydrate de rotundine	> 2
Théophylline	> 2
Anabasine	> 2
Cassaine (base)	> 2
Nitrate d'aconitine	> 4
Sulfate de mescaline	> 5
Sulfate d'hordénine	> 5
Sulfate d'ésérine	> 5

A une concentration de 10 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement:

Chlorhydrate d'éphédrine	Bromhydrate de cicutine
Chlorhydrate de cocaïne	Dionine
Sulfate de spartéine	Côlchicine
Chlorhydrate de narcotine	Bromhydrate d'arécoline
Sulfate d'atropine	Novocaïne
Chlorhydrate de morphine	Benzoate de novocaïne
Nitrate de pilocarpine	Paraoxybenzoate de novocaïne
Phosphate de codéine	Isobutyrate de novocaïne
Bromhydrate de scopolamine	Sébacate de novocaïne

TABEAU N° 36

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOÏDES
sur BACILLUS MESENTERICUS VULGATUS (souche 100)

A l c a l o ï d e	Dose bactério- statique (g. par litre)	Index phénolique
Xanthofagarine (base)-----	0,035	35
Nitrate de sanguinarine-----	0,045	33
Chlorhydrate de cépharanthine (conc.en base)-----	0,075	16,5
Chlorhydrate d'harmine (conc.en base)-----	0,30	4,1
Acétate d'isotétrandrine (conc.en base)-----	0,30	4,1
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc.en base)-----	0,35	3,5
Sulfate de berberine-----	0,35	3,5
Chlorhydrate de quinine-----	0,35	3,5
Chlorhydrate d'apomorphine-----	0,75	2
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène-----	0,75	1,6
Chlorhydrate d'émétine-----	0,75	1,6
Chlorhydrate d'yohimbine-----	1,25	1
Chlorhydrate de corynanthine-----	1,50	0,83
Chlorhydrate de céphéline-----	1,50	0,83
Chlorhydrate de boldine (conc.en base)-----	1,50	0,83
Bromhydrate de conessine-----	3,50	0,35
Sulfate d'hyosciamine (conc.en base)-----	4,50	0,28
Sulfate de strychnine-----	4,50	0,28
Chlorhydrate de vératrine (conc.en base)-----	4,50	0,28
Chlorhydrate d'hydrastine (conc.en base)-----	4,50	0,28
Phénylbutyrate de novocaïne-----	5,50	0,21
Chlorhydrate de cocaïne-----	5,50	0,21
Stovaïne-----	5,50	0,21
Caféine-----	9	0,14
Nicotine-----	11,50	0,10
Dextro-tubocurarine-----	<2	
Chlorhydrate de narcéine-----	>1	

A l c a l o ï d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Chlorhydrate de lobéline	> 1
Chlorhydrate de chélidonine (conc. en base)	> 1
Chlorhydrate de papavérine	> 1
Anabasine	> 1
Chlorhydrate de rotundine	> 2
Cassaïne (base)	> 2
Théophylline	> 2
Chlorhydrate de brucine (conc. en base)	> 2
Nitrate d'aconitine	> 4
Sulfate d'ésérine	> 5
Sulfate d'hordénine	> 5
Sulfate de mescaline	> 5

A une concentration de 10 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement:

Colchicine	Bromhydrate de cicutine
Bromhydrate d'arécoline	Dionine
Théobromine	Nitrate de pilocarpine
Sulfate de spartéine	Bromhydrate de scopolamine
Héroïne	Novocaïne
Chlorhydrate de narcotine	Benzoate de novocaïne
Sulfate d'atropine	Paraoxybenzoate de novocaïne
Chlorhydrate d'éphédrine	Sébacate de novocaïne
Chlorhydrate de morphine	Isobutyrate de novocaïne
Phosphate de codéine	

TABLEAU N° 37

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOIDES
sur PROTEUS X 19 (souche A)

A l c a l o i d e	Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
Chlorhydrate d'apomorphine	0,15	11,6
Chlorhydrate d'harmine (conc.en base)	0,30	7,5
Acétate d'isotétrandrine (conc.en base)	0,30	7,5
Chlorhydrate de cépharanthine (conc.en base)	1,50	1,5
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc.en base)	1,50	1,5
Chlorhydrate de quinine	1,50	1,5
Stovaïne	3,50	0,6
Chlorhydrate de corynanthine	3,50	0,6
Sulfate de berberine	3,50	0,6
Chlorhydrate d'yohimbine	4,50	0,5
Chlorhydrate d'hydrastine (conc.en base)	4,50	0,5
Chlorhydrate de céphéline	4,50	0,5
Sulfate de strychnine	5,50	0,4
Chlorhydrate de boldine (conc.en base)	5,50	0,4
Phénylbutyrate de novocaïne	7,50	0,3
Sulfate d'hyosciamine (conc.en base)	6,50	0,32
Sulfate de spartéine	7,50	0,30
Nicotine	8,50	0,26
Caféine	9	0,25
Chlorhydrate de narcotine	9,50	0,18
Xanthofagarine (base)	> 0,20	
Chlorhydrate de lobéline	> 1	
Chlorhydrate de papavérine	> 1	
Nitrate de sanguinarine	> 1	
Chlorhydrate de narcéine	> 1	
Chlorhydrate de chélidonine (conc.en base)	> 1	
Chlorhydrate de rotundine	> 2	

A l c a l o ï d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Anabesine	> 2
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène	> 2
Cassaine (base)	> 2
Théophylline	> 2
Chlorhydrate de brucine (conc. en base)	> 2
Nitrate d'aconitine	> 4
Bromhydrate de conessine	> 4
Sulfate d'hordéine	> 5
Sulfate d'ésérine	> 5
Sulfate de mescaline	> 5

A une concentration de 10 grammes par litre, les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement :

Phosphate de codéine	Nitrate de pilocarpine
Chlorhydrate de morphine	Héroïne
Chlorhydrate d'éphédrine	Dionine
Bromhydrate de cicutine	Chlorhydrate d'émétine
Bromhydrate d'arécoline	Sulfate d'atropine
Colchicine	Novocaïne
Bromhydrate de scopolamine	Benzoate de novocaïne
Chlorhydrate de cocaïne	Isobutyrate de novocaïne
Chlorhydrate de vératrine	Sébacate de novocaïne
Théobromine	Paraoxybenzoate de novocaïne

TABEAU N° 38

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOIDES
sur *EBERTHELLA TYPHOSA* (souche 1)

A l c a l o i d e	Dose bactério- statique (g. par litre)	Index phénolique
Chlorhydrate d'harmine (conc. en base)-----	0,15	11,6
Acétate d'isotétrandrine (conc. en base)-----	0,30	5,8
Chlorhydrate d'apomorphine-----	0,35	5
Chlorhydrate de cépharanthine (conc. en base)----	0,75	2,3
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc. en base)-----	0,75	2,3
Chlorhydrate de quinine-----	0,75	2,3
Chlorhydrate de corynanthine-----	1,25	1,4
Cassaïne (base)-----	1,75	1
Chlorhydrate d'yohimbine-----	2,25	0,77
Bromhydrate de conessine-----	2,50	0,7
Chlorhydrate de céphéline-----	2,50	0,7
Chlorhydrate de boldine (conc. en base)-----	2,50	0,7
Chlorhydrate d'émétine-----	2,50	0,7
Chlorhydrate d'hydrastine (base)-----	3,50	0,5
Sulfate de berbérine-----	3,50	0,5
Stovaïne-----	3,50	0,5
Sulfate de strychnine-----	3,50	0,5
Caféine-----	4,50	0,38
Sulfate d'hyosciamine (conc. en base)-----	6,50	0,26
Héroïne-----	6,50	0,26
Nicotine-----	7,50	0,23
Phénylbutyrate de novocaïne-----	7,50	0,23
Sulfate d'atropine-----	7,50	0,23
Théobromine-----	8,50	0,20
Chlorhydrate de cocaïne-----	8,50	0,20
Chlorhydrate de narcotine-----	9,50	0,18
Xanthofagarine-----	> 0,20	
Chlorhydrate de papavérine-----	> 1	

A l c a l o ï d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Chlorhydrate de Lobéline	>1
Chlorhydrate de narcéine	>1
Nitrate de sanguinarine	>1
Chlorhydrate de chélidonine (conc. en base)	>1
Chlorhydrate de brucine (conc. en base)	>2
Chlorhydrate de rotundine	>2
Anabasine	>2
Théophylline	>2
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène	>2
Nitrate d'aconitine	>4
Sulfate d'ésérine	>5
Sulfate de mescaline	>5
Sulfate d'hordénine	>5

A une concentration de 10 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement:

Chlorhydrate d'éphédrine	Phosphate de codéine
Bromhydrate de scopolamine	Chlorhydrate de vératrine
Colchicine	Sulfate de spartéine
Bromhydrate de cicutine	Novocaïne
Bromhydrate d'arécoline	Benzoate de novocaïne
Chlorhydrate de morphine	Isobutyrate de novocaïne
Nitrate de pilocarpine	Sébacate de novocaïne
Dionine	Paraoxybenzoate de novocaïne

TABLEAU N° 39

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOÏDES
sur KLEBSELLA PNEUMONIAE C+

A l c a l o ï d e	Dose bactério- statique (g.par litre)	Index phénolique
Chlorhydrate d'harminine (conc.en base)	0,30	7,5
Acétate d'isotétrandrine (conc. en base)	0,30	7,5
Chlorhydrate d'apomorphine	0,35	5
Chlorhydrate de cépharanthine (conc. en base)	0,75	3
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc. en base)	1,50	1,5
Chlorhydrate de quinine	1,50	1,5
Chlorhydrate de boldine (conc. en base)	2,50	0,9
Chlorhydrate de corynanthine	3,50	0,64
Sulfate de strychnine	3,50	0,64
Chlorhydrate d'yohimbine	3,50	0,64
Bromhydrate de conessine	4,50	0,5
Stovaïne	5,50	0,4
Sulfate de berbérine	5,50	0,4
Chlorhydrate de céphéline	6,50	0,34
Chlorhydrate d'hydrastine (conc. en base)	6,50	0,34
Nicotine	8,50	0,26
Chlorhydrate d'émétine	9,50	0,25
Xanthofagarine (base)	> 0,20	
Chlorhydrate de papavérine	> 1	
Nitrate de sanguinarine	> 1	
Chlorhydrate de narcéine	> 1	
Chlorhydrate de lobéline	> 1	
Chlorhydrate de chélidonine	> 1	
Théophylline	> 2	
Cassaine (base)	> 2	
Chlorhydrate de rotundine	> 2	
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène	> 2	

A l c a l o ï d e	Dose bactériostatique (g. par litre)
Anabasine	> 2
Chlorhydrate de brucine (conc. en base)	> 2
Nitrate d'aconitine	> 4

A une concentration de 5 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité :

Sulfate d'ésérine
Sulfate de mescaline
Sulfate d'hordénine.

A une concentration de 10 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement :

Théobromine	Sulfate de spartéine
Chlorhydrate de vératrine	Sulfate d'hyosciamine
Chlorhydrate d'éphédrine	Chlorhydrate de narcotine
Bromhydrate de scopolamine	Dionine
Colchicine	Héroïne
Bromhydrate de cicutine	Caféine
Bromhydrate d'arécoline	Novocaïne
Chlorhydrate de morphine	Benzoate de novocaïne
Nitrate de pilocarpine	Isobutyrate de novocaïne
Phosphate de codéine	Paraoxybenzoate de novocaïne
Sulfate d'atropine	Phénylbutyrate de novocaïne
Chlorhydrate de cocaïne	Sébacate de novocaïne

TABEAU N° 40

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE DE DIVERS ALCALOÏDES
sur SHIGELLA DYSENTERIAE (souche 35)

A l c a l o ï d e	Dose bactério- statique (g. par litre)	Index phénolique
Chlorhydrate d'apomorphine	0,035	35,7
Chlorhydrate d'harmine (conc. en base)	0,075	16,6
Nitrate de sanguinarine	0,15	8,3
Acétate d'isotétrandrine (conc. en base)	0,15	8,3
Sulfate de berberine	0,35	3,5
Chlorhydrate de cépharanthine (conc. en base)	0,35	3,5
Chlorhydrate de céphéline	0,65	2
Chlorhydrate d'ibogaïne (conc. en base)	0,75	1,6
Chlorhydrate de quinine	0,75	1,6
Bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'holarrhène	0,75	1,6
Cassaïne (base)	0,75	1,6
Bromhydrate de conessine	0,75	1,6
Stovaïne	0,90	1,4
Chlorhydrate de corynanthine	1,25	1
Chlorhydrate d'émétine	1,50	0,8
Chlorhydrate d'hydrastine (conc. en base)	1,50	0,8
Chlorhydrate d'yohimbine	1,75	0,7
Chlorhydrate de boldine (conc. en base)	2,50	0,5
Sulfate de spartéine	2,50	0,5
Sulfate de strychnine	3,50	0,35
Caféine	3,50	0,35
Chlorhydrate de vératrine (conc. en base)	4,50	0,28
Sulfate d'hyosciamine (conc. en base)	4,50	0,28
Héroïne	5,50	0,22
Bromhydrate de cicutine	5,50	0,22
Phosphate de codéine	5,50	0,22
Chlorhydrate de cocaïne	5,50	0,22

A l c a l o ï d e	Dose bactériostatique (g. par litre)	Index phénolique
Phénylbutyrate de novocaïne	5,50	0,22
Nicotine	6,50	0,20
Sulfate d'atropine	6,50	0,20
Théobromine	8,50	0,14
Chlorhydrate de narcotine	8,50	0,14
Xanthofagarine (base)	> 0,20	
Chlorhydrate de papavérine	> 1	
Chlorhydrate de chélidonine (conc. en base)	> 1	
Chlorhydrate de lobéline	> 1	
Chlorhydrate de narcéine	> 1	
Théophylline	> 2	
Anabasine	> 2	
Chlorhydrate de rotundine	> 2	
Chlorhydrate de brucine (conc. en base)	> 2	
Nitrate d'aconitine	> 4	
Sulfate d'ésérine	> 5	
Sulfate d'hordénine	> 5	
Sulfate de mescaline	> 5	

A une concentration de 10 grammes par litre les produits suivants n'ont manifesté aucune activité, ou n'ont fait que ralentir le développement microbien sans l'arrêter totalement :

Bromhydrate de scopolamine
Colchicine
Chlorhydrate de morphine
Bromhydrate d'arécoline
Nitrate de pilocarpine
Novocaïne

Isobutyrate de novocaïne
Dionine
Sébacate de novocaïne
Paraoxybenzoate de novocaïne
Chlorhydrate d'éphédrine
Benzoate de novocaïne.

COMPARAISON AVEC LE QUINOSOL DES ALCALOÏDES LES PLUS ACTIFS

Nous donnons ci-dessous les doses antigénétiques du quinosol que nous avons étudié dans les mêmes conditions que les alcaloïdes. Nous indiquerons ensuite un "index quinosolique" que nous avons déterminé comme l'index phénolique, c'est-à-dire en faisant le rapport entre la dose antigénétique du quinosol et la dose antigénétique de l'alcaloïde examiné vis-à-vis du même germe. Nous indiquerons enfin les conclusions que nous pouvons tirer de la comparaison des produits alcaloïdiques avec cet antiseptique.

TABLEAU N° 41

Doses bactériostatiques du quinosol (grammes par litre)		
	Méthode "des stries"	Méthode "des dilutions"
Staphylocoque	0,020	0,0075
B. pyocyannique	0,45	0,50
Colibacille	0,075	0,07
B. mesentericus	0,0075	0,02
B. proteus	0,15	0,20
B. typhique	0,035	0,05
Pneumobacille	0,035	0,12
B. de Shiga	0,0075	0,02

TABLEAU N° 42

	Index Quinosolique							
	Staphy- locoque	B. pyo- cyaniq.	Coli- bacille	B. mesen- tericus	B. proteus	B. ty- phique	Pneumo bacille	B. de Shiga
Chlorhydrate d'apomorphine	0,26	1,28	0,21	0,01	1	0,10	0,10	0,21
Chlorhydrate d'harmine	0,025	1,10	0,25	0,06	0,66	0,33	0,40	0,26
Chlorhydrate de cépharanthine	0,005		0,20	0,20	0,13	0,05	0,16	0,05
Acétate d'iso- tétrandrine	0,01	1,40	0,23	0,06	0,66	0,16	0,40	0,10
Sulfate de berbérine	0,021	0,20	0,04	0,05	0,05	0,01	0,02	0,05
Chlorhydrate d'ibogaïne	0,005	0,33	0,04	0,05	0,13	0,06	0,08	0,02
Bromhydrate des alcaloïdes to- taux de l'Holarrhène	0,005		0,05	0,02				0,02
Chlorhydrate de quinine	0,004	0,06	0,04	0,05	0,13	0,06	0,08	0,02
Xanthofagarine				0,57				
Nitrate de sanguinarine	0,44			0,16				0,05

CONCLUSION - Le chlorhydrate d'apomorphine s'est montré plus actif que le quinosol à l'égard du Bacille pyocyanique, aussi actif vis-à-vis du Bacille proteus, mais, par contre, jusqu'à cent fois moins actif sur d'autres bactéries.

Le chlorhydrate d'harmine a été aussi actif que le quinosol sur le Bacille pyocyanique et de deux à trente fois moins actif envers les autres bactéries.

Le chlorhydrate de cépharanthine s'est montré de quatre à cent cinquante fois moins actif.

L'acétate d'isotétrandrine, plus actif que le quinosol sur le Bacille pyocyanique, est de quatre à soixante quinze fois moins actif que ce produit sur les autres bactéries.

Le sulfate de berbérine est de cinq à soixante-dix fois moins actif que le quinosol.

Le chlorhydrate d'ibogaïne est de trois à cent cinquante fois moins actif.

Le bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'Holarrhène est dix-sept fois moins actif sur le Colibacille et trente-sept fois moins actif que le quinosol sur le Bacille de Shiga et au moins cent cinquante fois moins actif sur les autres bactéries mises en expérience.

Le chlorhydrate de quinine est deux cent cinquante fois moins actif que le quinosol sur le Staphylocoque; par contre, il n'est que sept à trente sept fois moins actif sur les autres bactéries.

La Xanthofagarine est deux fois moins active que le quinosol sur le Bacille mesentericus.

Le nitrate de sanguinarine est deux fois moins actif que le quinosol sur le Staphylocoque, environ six fois moins actif sur le Bacille mesentericus et vingt fois moins sur le Bacille de Shiga.

o o

Les résultats obtenus dans la recherche de l'activité bactériostatique des alcaloïdes nous montrent que, si la plupart des produits utilisés en thérapeutique courante n'ont aucune action dans les conditions où nous les avons étudiés, certains possèdent cependant un pouvoir antigénétique qui est loin d'être négligeable.

Il nous paraît utile de faire remarquer qu'il serait nécessaire de tenir compte de cette activité au cours des essais de stérilité des solutés injectables d'alcaloïdes.

Rappelons, en effet, les conditions qui sont déterminées par le Codex (1949) (page 1069), pour l'essai de stérilité des préparations injectables :

" Prélever aseptiquement 1 ou 2 cm³ de liquide et introduisez
" les dans des tubes de culture contenant un bouillon légèrement alcalin
" à la phénolphtaléine et préparé suivant la formule ci-dessous :

Peptone	20 g.
Glucose officinal	1 -
Chlorure de sodium off.	1 -
Eau distillée	1.000 g.

" Maintenez les tubes à l'étuve à 37°C pendant 24 heures, il ne
" devra se produire aucun développement microbien et le liquide ne devra
" pas présenter d'odeur fétide. "

Nous avons vu, dans la première partie de notre travail, l'influence des conditions de l'essai et en particulier celle du milieu de culture utilisé, sur les résultats obtenus. C'est pourquoi nous avons repris l'étude des quelques produits alcaloïdiques qui entrent dans la préparation des solutés injectables indiqués au Codex, en utilisant comme milieu de culture l'eau peptonée salée glucosée.

Nous ne donnerons pas en détail les résultats que nous avons obtenus avec chaque bactérie mise en expérience, mais dans le tableau ci-dessous nous indiquerons les concentrations les plus faibles qui sont déjà bactériostatiques pour certains germes.

Nous voyons, d'après les données du Codex, que le prélèvement à effectuer peut varier de 1 à 2 cm³ et qu'il est transporté dans un tube renfermant le milieu de culture dont la quantité n'est pas précisée. En général cette quantité varie de 5 à 10 cm³.

Dans le tableau ci-dessous nous avons noté les différentes conditions dans lesquelles on peut se trouver en effectuant un essai de stérilité tel que l'indique le Codex. Nous indiquons tout d'abord les quantités de principe actif contenues dans 1 cm³ et dans 2 cm³ de solution qui sont les quantités limites du prélèvement. Nous indiquons ensuite les concentrations en principe actif par litre de milieu de culture si l'on emploie des tubes renfermant soit 5 cm³, soit 10 cm³ d'eau peptonée salée glucosée ; ces quantités étant considérées comme les quantités limites pour un tube à essai de dimension moyenne (18 cm/ 18 cm).

En examinant le tableau nous voyons que la concentration finale du produit alcaloïdique contenue dans le milieu de culture se trouve dépasser, dans certains cas, la concentration bactériostatique. Par exemple, le soluté de chlorhydrate d'apomorphine officinal renferme 0,005 gramme d'alcaloïde par cm³ ; si l'on prélève 1 cm³ de soluté pour le transporter dans 5 cm³ de bouillon, on obtient une concentration finale de 0,83 g. par litre de chlorhydrate d'apomorphine. Pour 10 cm³ de milieu de culture la concentration finale est de 0,45 gramme par litre. Si le prélèvement est de 2 cm³, on obtient une concentration finale de 1,40 g. par litre dans un tube de 5 cm³ de milieu, et de 0,83 g. par litre pour 10 cm³ de milieu. Or, nous avons observé que 0,075 gramme par litre de ce même produit arrête le développement de certains germes. Dans ces conditions, il sera impossible de mettre en évidence les germes présents dans le soluté soumis à l'essai. Nous voyons, d'après ce tableau, que pour cinq solutés sur neuf nous nous trouvons dans le même cas.

De plus, nous avons vu que si certaines concentrations de substances alcaloïdiques n'arrêtent pas définitivement le développement microbien, celui-ci peut se faire tardivement et débiter après 24 heures d'incubation à 37°C. Ce temps limite indiqué par le Codex est donc nettement insuffisant.

Nous nous proposons de poursuivre cette étude afin de rechercher les conditions qu'il faudrait adopter pour que l'essai de stérilité des solutés injectables d'alcaloïde soit valable.

TABLEAU N° 43

Soluté injectable de :	Concentration en principe actif en grammes, dans:		Concentration réalisée dans le milieu de culture en transportant				Concentration bactériostatique minimum (g. par litre)
			dans 5 cm ³ de bouillon		dans 10 cm ³ de bouillon		
	1 cm ³	2 cm ³	1 cm ³ de soluté (g. par litre)	2 cm ³ de soluté	1 cm ³ de soluté (g. par litre)	2 cm ³ de soluté	
Bromhydrate de scopolamine	0,0005	0,001	0,08	0,14	0,04	0,08	> 10
<u>Caféine</u>	0,25	0,50	41,6	71	22	41,6	<u>3,50</u>
<u>Chlorhydrate d'apomorphine</u>	0,005	0,01	0,83	1,4	0,45	0,83	<u>0,075</u>
<u>Chlorhydrate d'émétine</u>	0,04	0,08	6,6	11,4	3,6	6,6	<u>0,75</u>
Chlorhydrate de morphine	0,01	0,02	1,6	2,8	0,9	1,6	> 10
Chlorhydrate de <u>quinine et d'éthyl-uréthane</u>	0,40	0,80	66	114	36	66	<u>0,75</u>
Sulfate d'atropine	0,0005	0,001	0,08	0,14	0,04	0,08	5
<u>Sulfate de spartéine</u>	0,05	0,10	8,3	14	4,5	8,3	<u>6,50</u>
Sulfate de strychnine	0,001	0,002	0,16	0,28	0,09	0,16	5

Les solutés injectables dont les noms sont soulignés sont ceux pour lesquels l'essai de stérilité du Codex ne permet pas de conclusion.

Les solutés injectables dont les noms sont soulignés sont ceux pour lesquels l'essai de stérilité du Codex ne permet pas de conclusion.

RECHERCHE DU POUVOIR BACTERIOSTATIQUE DE CERTAINS ALCALOIDES

VIS-A-VIS DU BACILLE TUBERCULEUX

La méthode appliquée pour cette recherche est basée sur le principe de la méthode des dilutions que nous avons décrite en détail plus haut. Nous signalons ici quelques modifications apportées à cette méthode pour son application à l'étude du bacille tuberculeux.

Le milieu de culture employé est le milieu de Sauton que nous préparons à concentration double selon la formule suivante :

Asparagine	4 g.
Glycérine	60 -
Acide citrique	2 -
Phosphate bipotassique	0,50
Sulfate de magnésium	0,50
Citrate de fer ammoniacal	0,05
Eau distillée	500 cm ³ .

Les produits sont dissous dans l'eau, le pH est ajusté à 7,2 à l'aide d'ammoniaque. Le milieu est réparti dans des tubes de 20 mm. de diamètre (et non plus 18 mm), à raison de 5 cm³ par tube et stérilisé 20 minutes à 120°C.

de liquide est de 10 cm³ au lieu de 5 cm³ précédemment.

Au moment de l'emploi nous ajoutons à ce milieu 1 pour 25 de sérum de cheval que nous répartissons aseptiquement.

La souche utilisée pour nos essais est une souche de Mycobacterium tuberculosis, type Brévannes, que nous entretenons par culture sur pomme de terre glycinée. Les tubes de culture sont maintenus à l'étude à 37°C et la souche est réensemencée chaque mois.

Pour les essais une anse de culture est prélevée sur pomme de terre et transportée dans 40 cm³ de milieu de Sauton contenu dans une fiole d'Erlenmeyer. Après trois semaines cette nouvelle culture, soigneusement homogénéisée, sert à ensemençer les différents tubes à essai, à raison de 0,20 cm³ par tube.

Les solutions du produit à examiner sont préparées au moment de l'essai en eau distillée stérile.

Pour chaque substance essayée une série de tubes à essai est préparée contenant :

Milieu de Sauton à concentration double	5 cm ³
Sérum de cheval	0,40
Solution du produit à essayer	quantités décroissantes
Culture du bacille de Koch en milieu de Sauton	0,20
Eau distillée stérile	Q.S. pour 10 cm ³ .

A chaque essai, 2 tubes témoins exempts de produit inhibiteur, sont mis en série.

Les tubes sont placés en position inclinée, sur des plateaux, à l'étude à 37°C. Après une semaine ils sont capuchonnés au caoutchouc.

Les résultats sont enregistrés après agitation des tubes à essai, de façon à obtenir une suspension grossière dans les tubes où la concentration de l'antibiotique est assez faible pour permettre un développement bacillaire.

La lecture des résultats est effectuée après trois semaines et après six semaines de culture.

L'état de la culture est noté par rapport au développement du témoin, en adoptant la notation suivante :

+++	développement normal identique au témoin
++	" moindre
+	" évident mais peu marqué
<u>+</u>	" douteux
0	absence de culture.

Nous donnons dans le tableau suivant les résultats obtenus dans l'étude de quelques alcaloïdes.

Nous donnons ensuite les résultats obtenus en étudiant le Tb.1 ou p-acétamino-benzaldehyde-thiosemicarbazone, que nous avons étudié dans les mêmes conditions que les produits alcaloïdiques et que nous prenons comme témoin.

TABLEAU N° 44

ACTION DE QUELQUES ALCALOÏDES sur MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

(Souche Brévannes - Milieu Sauton-sérum).

	Concentration mise en expérience (g. par litre)	Temps de culture		Dose bactériostatique (g. par litre) ou mmgr. par cm ³
		3 semaines	6 semaines	
Chlorhydrate d'harmine	0,03	0	0	0,025
	0,02	0	+	
	0,01	+++	+++	
Bromhydrate des alc. totaux de l'Holarrhène	0,10	0	0	0,075
	0,05	+	+++	
	0,025	+	+++	
	0,010	+++	+++	
Chlorhydrate d'apomorphine	0,20	0	0	0,15
	0,10	+	+	
	0,05	+	+	
	0,025	+	++	
	0,010	++	++	
	0,005	+++	+++	
Sulfate de berbérine	0,20	0	0	0,15
	0,10	+	++	
	0,05	++	+++	
	0,02	++	+++	
	0,01	+++	+++	
Acétate d'isotétrandrine	0,20	0	0	0,15
	0,10	0	+	
	0,05	+	++	
	0,02	+++	+++	
Chlorhydrate de corynanthine	0,50	0	0	0,35
	0,20	+++	+++	
Chlorhydrate d'émétine	0,50	0	0	0,35
	0,25	+	+	
	0,10	+	++	
	0,05	+++	+++	
Chlorhydrate de morphine	0,40	0	0	0,30
	0,20	0	+	
	0,10	+	++	
	0,05	+	++	
	0,02	++	+++	
	0,01	+++	+++	

	Concentration mise en expérience (g. par litre)	Temps de culture		Dose bactériostatique (g. par litre) cummgr. par cm
		3 semaines	6 semaines	
Bromhydrate de conessine	1,50	0	0	1,25
	1	+	+	
	0,80	+	++	
	0,50	+++	+++	
Sulfate de strychnine	1,50	0	0	1,25
	1	0	+	
	0,75	0	+	
	0,50	+++	+++	
Xanthofagarine	0,20	+++		> 0,20
	Solution saturée: donne un précipité avec le milieu de Sauton			
Chlorhydrate de cocaïne	2	+++		> 2
"T. b 1"	0,05	0	0	0,035
pris comme témoin	0,02	+	+	
(p-acétamino-benzaldéhyde- thio-semicarbazone)	0,01	+	+	
	0,005	+	++	
	0,001	+++	+++	

CONCLUSION - Nous voyons d'après ce tableau que seul le chlorhydrate d'har- mine s'est montré plus actif que le T. b 1 vis-à-vis du Bacille Tuberculeux (souche Brévannes).

Le bromhydrate des alcaloïdes totaux de l'Holarrhène a été deux fois moins actif.

Le chlorhydrate d'apomorphine, le sulfate de berbérine et l'acétate d'isotétrandrine ont été environ quatre fois moins actifs.

Le chlorhydrate de corynanthine, le chlorhydrate de morphine et le chlorhydrate d'émétine ont été environ dix fois moins actifs.

Le bromhydrate de conessine et le sulfate de strychnine ont été environ trente cinq fois moins actifs.

La xanthofagarine en solution saturée n'a manifesté aucune activité.

En ce qui concerne le chlorhydrate de cocaïne, nous n'avons pas jugé utile d'étudier des concentrations supérieures à deux grammes par litre.

Notons qu'au cours de nombreux essais que nous avons eu l'occasion d'effectuer sur le Bacille tuberculeux, nous avons étudié dans les mêmes conditions l'action de l'isoniazide et celle de l'acide paraaminosalicylique.

Le premier s'est montré bactériostatique, dans nos conditions expérimentales, à la concentration de 6,5 γ par centimètre cube, soit 0,0065 gramme par litre, et le second à la concentration de 0,35 γ par centimètre cube, soit 0,00035 gramme par litre.

Nous voyons, d'après ces chiffres, que le chlorhydrate d'harmine, le plus actif des alcaloïdes que nous ayons étudiés, est environ quatre fois moins actif que l'isoniazide et soixante dix fois moins actif que le P.A.S.

DEUXIEME PARTIE

Dans la seconde partie de notre travail, nous envisagerons les différentes actions, étrangères à l'action bactériostatique, que peuvent exercer les produits alcaloïdiques sur les bactéries.

Nous examinerons successivement l'action bactéricide des alcaloïdes, leur éventuelle action stimulante sur la croissance du Staphylocoque, et, enfin, les variations morphologiques de quelques espèces bactériennes cultivées en présence d'alcaloïde.

A - ACTION BACTERICIDE DES ALCALOÏDES

Nous avons envisagé l'étude de l'action bactéricide des alcaloïdes sur les bactéries, mais nous n'avons pas poursuivi ce travail pour les raisons que nous allons exposer.

Rappelons brièvement la méthode utilisée pour cette recherche :

Une série de tubes à essai est préparée renfermant des doses décroissantes d'alcaloïde sous un volume constant de 5 cm³ de solution, par tube. On ajoute, dans chaque tube à essai, une quantité fixe d'une suspension microbienne et après un temps de contact déterminé on prélève 0,10 cm³ de chaque dilution que l'on transporte dans une série de tubes à essai renfermant 5 cm³ de bouillon de culture.

Par ce procédé une certaine quantité de produit actif se trouve transportée dans la subculture.

En ce qui concerne les alcaloïdes les doses bactéricides, quand elles existent, sont telles que se trouve transportée dans la subculture une quantité de produit qui est voisine de la dose bactériostatique; de telle sorte que l'on ne peut pas dire si la subculture est inhibée par la dose d'alcaloïde que l'on a ajoutée au bouillon ou si les bactéries ont été tuées pendant leur contact avec la solution à essayer. Il faudrait à nouveau prélever une petite quantité de subculture et la transporter dans un second tube de bouillon de culture.

Un autre procédé d'étude permettrait de poursuivre cette recherche. Ce procédé consiste à centrifuger chaque solution pour recueillir les bactéries, laver celles-ci à l'eau distillée stérile pour les débarrasser de l'alcaloïde qu'elles ont entraîné et les transporter ensuite dans la subculture. Cette méthode préconisée dès 1933 par S.LAMBIN (28) a été reprise dernièrement par D.VIDEAU (57).

Il nous a paru sans intérêt de poursuivre cette recherche en raison de la très faible activité bactéricide des alcaloïdes. Citons-en quelques exemples :

Le sulfate de berberine en solution saturée n'a aucune action sur le Staphylocoque.

Le chlorhydrate d'harmine au 1/100 n'a pas d'action bactéricide sur le Staphylocoque et le Bacille mesentericus après contact de 30 minutes.

Le chlorhydrate de morphine et le chlorhydrate de cocaïne n'ont pas d'action bactéricide sur le Staphylocoque et le Bacille mesentericus en 30 minutes.

Le vanthofagarine en solution saturée n'a aucune action sur le Colibacille ou le Bacille mesentericus en 30 minutes. Par contre, le Staphylocoque est tué par la même solution en 30 minutes.

B - RECHERCHE D'UNE EVENTUELLE ACTION STIMULANTE DES ALCALOÏDES SUR LE STAPHYLOCOQUE

Après avoir étudié l'action bactériostatique des alcaloïdes à l'égard des bactéries, nous avons recherché si ces substances, à certaines concentrations, n'exerçaient pas, parfois, sur le développement des bactéries, une action favorisante. Il n'est pas rare, en effet, de voir certaines substances physiologiquement actives, présenter des actions inverses selon les doses utilisées.

Le mode de lecture des résultats que nous avons employé jusqu'ici pour l'étude de l'action bactériostatique des alcaloïdes, ne pouvait nous fournir que des résultats approximatifs. En effet, il est difficile de noter avec précision le degré d'opacité des différents tubes de culture; nous avons adopté quatre degrés d'opacité conventionnels représentant respectivement : une culture normale (++), retardée (+), douteuse (+), ou nulle (0) ; mais, en réalité, quand les dilutions d'alcaloïdes mises en essai présentent des taux très rapprochés, la différence entre l'intensité du développement de la culture dans les tubes voisins est impossible à déterminer avec précision. D'autre part, nos lectures ont été faites après 24 heures, puis après 48 et 72 heures de culture et nous avons remarqué que certains produits retardent le développement de la culture dans les premières heures seulement, puis qu'après 24 heures, le développement paraît normal.

Pour rechercher l'existence éventuelle d'une dose favorable, il nous fallait une méthode de lecture plus précise. Nous avons donc employé la méthode des dilutions avec lecture à l'électrophotomètre, qui nous a permis de suivre d'heure en heure la multiplication microbienne dans un milieu renfermant des doses décroissantes d'alcaloïde. Ces doses ont été choisies depuis les concentrations inhibitrices jusqu'à des doses infinitésimales de l'ordre de 1/1000 de γ par litre. Nous avons étudié ainsi les alcaloïdes dont l'action bactériostatique nous a paru intéressante et quelques alcaloïdes non actifs mais d'emploi courant.

Nous allons d'abord décrire la technique employée et nous donnerons ensuite les résultats obtenus.

Electrophotomètre de Meunier - Rappelons brièvement le principe de cet appareil : deux cellules photoélectriques sont éclairées par une même source lumineuse; elles sont placées en opposition et reçoivent des faisceaux identiques. Un galvanomètre très sensible est placé sur le circuit de ces cellules. Sur le trajet de l'un des faisceaux lumineux en avant de la cellule sont placés une cuve d'absorption remplie de dissolvant pur et un coin absorbant placé au maximum d'absorption au moment du réglage de l'appareil. Sur le faisceau symétrique se trouvent un diaphragme et un obturateur. On manœuvre ceux-ci pour obtenir au départ la déviation nulle du galvanomètre. Ensuite on remplit la cuve de la solution à titrer et l'on retire partiellement le coin absorbant de façon à diminuer son efficacité et réaliser à nouveau une déviation nulle du galvanomètre. On voit qu'ainsi

l'absorption due au liquide de la cuve correspond exactement à la diminution de celle du coin absorbant. Les déplacements de ce dernier sont enregistrés sur un tambour gradué. L'appareil comprend aussi un dispositif permettant d'intercaler sur chaque faisceau des écrans colorés, et, ainsi, d'opérer avec des bandes spécialement choisies de radiations. Dans nos essais nous avons toujours employé l'écran jaune avec lequel les mesures se sont montrées les plus sensibles.

Pour observer d'heure en heure nos cultures, nous avons employé, à la place de la cuve habituelle, des fioles spéciales, dites fioles de RAOUL et MEUNIER. Ce sont des fioles d'Erlenmeyer, d'un volume de 100 cm³, pourvues d'un ajutage latéral communiquant avec un petit réservoir à faces parallèles mesurant 20 mm de diamètre et 10 mm d'épaisseur.

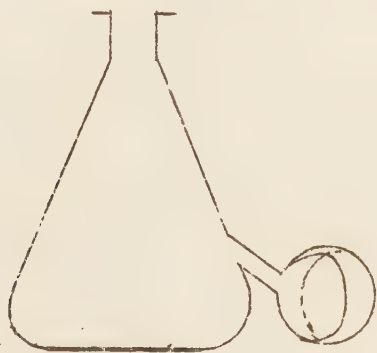


Fig.3
Fiole dite de RAOUL et MEUNIER

à l'étude à 37°C jusqu'à la lecture suivante. Ce dispositif évite de transvaser la culture dans les cuves de l'appareil.

La culture est placée dans la fiole, et, au moment des lectures par simple renversement après agitation circulaire, introduite, en partie, dans le petit cylindre ; l'appareil est placé alors dans le support de l'électrophotomètre ; après lecture le liquide de culture est ramené dans la fiole, cette précaution est nécessaire pour éviter que la culture dans le cylindre n'altère le verre des faces parallèles ; puis la culture est reportée

Les résultats de ces examens sont traduits par des courbes établies en portant en abscisses les temps de culture et en ordonnées les valeurs correspondantes indiquées par le tambour de l'électrophotomètre.

Pour chaque essai, une culture témoin évoluée en l'absence de substances alcaloïdiques, fournit la courbe normale de croissance. Nous avons pu ainsi suivre les étapes de la multiplication microbienne dans les conditions normales et en présence de concentrations variables de substances antiseptiques. Cette méthode a été utilisée par de nombreux auteurs pour suivre l'action de la pénicilline et de certains sulfamides sur la croissance des bactéries. P.BONET-MAURY (5) a insisté sur le fait que l'aspect des courbes obtenues permet de déterminer le mode d'action du produit essayé :

L'arrêt de la multiplication ou bactériostase se traduit par une droite horizontale. La lyse bactérienne apparue en pleine phase logarithmique diminue l'opacité de la culture et se traduit par une phase descendante. L'action "bactériofreinatrice" se traduit par un affaiblissement de la pente de la courbe qui poursuivra avec retardement son cours normal (Fig.4).

En fait, une même substance antiseptique présente souvent des actions multiples qu'il est bien difficile de dénouer. En ce qui concerne les alcaloïdes nous verrons plus loin qu'ils se sont toujours comportés comme "bactériofreinateurs".

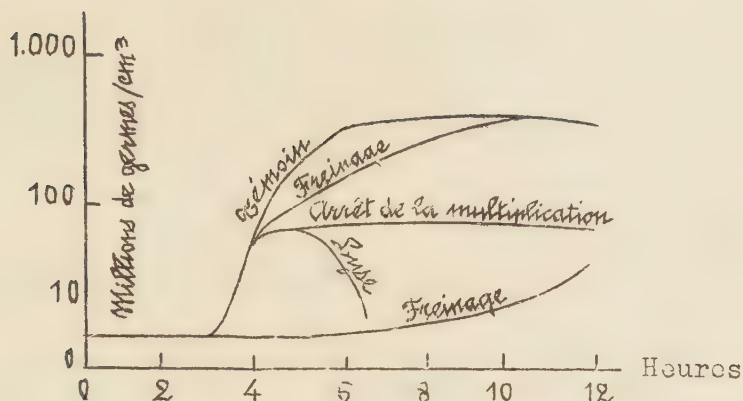


Fig.4 - Graphique exprimant les actions antibactériennes bactériostatique ou bactéricide, d'après BONET-MAURY.

Grâce à la méthode que nous venons de décrire nous avons étudié l'action des alcaloïdes sur le Staphylocoque doré, qui est connu pour sa résistance à la plupart des substances antiseptiques et adopté généralement pour leur essai.

Choix d'un milieu de culture -

Le milieu à l'autolysat de levure renfermant de nombreux facteurs de croissance, il nous a paru utile de rechercher un milieu plus pauvre afin de mettre en évidence plus sûrement l'action favorable des alcaloïdes, au cas où elle se manifesterait.

Nous avons choisi un milieu dans lequel le Staphylocoque se développe très bien et qui nous a donné des résultats très réguliers. Il s'agit du milieu à base d'hydrolysate de caséine dont nous avons donné la formule page 18.

Préparation de la suspension bactérienne -

Le Staphylocoque doré (souche +) a été cultivé sur bouillon gélosé incliné, la suspension de bactéries étant préparée au moment de l'essai, à partir d'une culture âgée de 24 heures et cultivée à 37°C.

Après un ensemencement initial de 10 millions de cocci par centimètre cube, jusqu'alors adopté, l'opacité du milieu augmentait très rapidement et dépassait très vite la zone de sensibilité de l'électrophotomètre. Nous avons donc essayé d'utiliser différents ensemencements et nous nous sommes arrêtée finalement à la concentration de 500.000 germes par cm³, nombre qui nous a permis de suivre facilement les différentes phases de la culture.

Pour obtenir cette suspension, nous préparons dans 15 cm³ d'eau distillée stérile une suspension mère à 200 millions de germes par cm³ en nous référant à la gamme étalon, nous diluons 10 cm³ de cette suspension au 1/4 par addition de 30 cm³ d'eau distillée stérile et finalement nous prélevons 0,20 cm³ de cette dilution qui est ensemencé dans 20 cm³ du milieu de culture. Nous obtenons ainsi une concentration finale d'environ 500.000 Staphylocoque par centimètre cube.

Solutions alcaloïdiques à l'étude -

Les solutions d'alcaloïdes sont préparées comme précédemment en eau distillée stérile. Les différentes dilutions nécessaires sont effectuées en diluant successivement la solution mère de 10 en 10 dans l'eau distillée stérile.

Schéma d'un essai -

Dans une série de fioles de RAOUL et MEUNIER nous répartissons successivement :

Milieu de culture à concentration double	10 cm ³
Suspension microbienne	0,20
Solution d'alcaloïde	quantités décroissantes
Eau distillée stérile	Q.S. pour 20 Cm ³ .

Le contenu de chaque fiole est étalonné à l'électrophotomètre et les fioles sont placées à l'étuve à 37°C. Toutes les deux ou trois heures, on effectue une nouvelle lecture néphélométrique. Pour avoir une gamme complète de résultats pendant 48 heures consécutives, il nous fallait procéder à un ensemencement le matin à 9 heures d'une culture qui pouvait être suivie jusqu'à 18 heures, c'est-à-dire pendant les neuf premières heures, (lecture aux heures - 7 1/2 - 9 - voir tableau) et qui était étudiée à nouveau le lendemain matin après 24 heures d'incubation, puis après 27 et 32 heures, et le surlendemain, après 48 heures. Pour étudier une culture âgée de 9 à 24 heures, puis de 32 à 48 heures, nous devons nécessairement procéder à une seconde culture qui, ensemencée, dans des conditions strictement identiques, le premier soir à 18 heures, nous fournissait le lendemain matin à 9 heures une culture âgée de 15 heures ; nous suivions cette culture aux heures 18 - 23 et 39 (voir tableau).

Nous donnons, à titre d'exemple, les résultats des essais effectués avec le chlorhydrate d'harmine :

Etude de l'influence du chlorhydrate d'harmine, à diverses concentrations, sur le développement de Staphylococcus aureus -

La solution mère de chlorhydrate d'harmine a été préparée au 1/500 (concentration en base) et a servi à préparer les dilutions nécessaires.

Nous avons effectué deux séries d'essais. La première en utilisant des concentrations de l'alcaloïde allant de 0,50 à 0,005 gramme par litre. La seconde en utilisant des concentrations allant de 1.000 à 0,1 % par litre.

Première série d'essais -

Nous avons réparti dans deux séries de sept fioles 10 cm³ de milieu à concentration double, la suspension microbienne (0,20 cm³), des quantités décroissantes de solutions alcaloïdiques au 1/500 et au 1/10.000 et, enfin, des quantités décroissantes d'eau distillée stérile afin de compléter au volume constant de 20 cm³.

Nous donnons ci-dessous les volumes des divers réactifs mis en expérience et les résultats des lectures effectuées après les divers temps d'incubation.

TABEAU N° 45

Dispositif schématique d'un essai

	Volumes en cm ³						
	10	10	10	10	10	10	10
Milieu à concentration double	10	10	10	10	10	10	10
Suspension microbienne (50 millions germes/ cm ³)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Solution alcaloïdique au 1/500	5	2,50	1	0,50		-	
au 1/10.000					2	1	
Eau distillée stérile	4,80	7,30	8,80	9,30	7,80	8,80	9,80
Dilutions finales en g. par litre	0,50	0,25	0,10	0,05	0,01	0,005	Témoin
<u>Résultats :</u>							
<u>Temps de culture :</u>	<u>Graduations du tambour de l'électrophotomètre :</u>						
5 heures	0	0	0	0	13	22	36
7 h. 30	0	0	0	0	80	94	115
9 h.	0	0	0	0	143	160	197
15 h.	0	0	0	0	343	365	404
18 h.	0	0	0	3	437	438	466
23 h.	0	0	0	84	499	475	499
24 h.	0	0	0	102	478	491	488
27 h.	0	0	0	178	490	494	490
32 h.	0	0	0	401	485	499	482
39 h.	0	0	0	462	482	481	501
48 h.	0	0	0	436	475	470	482

Nous avons reporté ces résultats sur les courbes suivantes, en portant en abscisses les heures d'incubation et en ordonnées les opacités correspondantes directement exprimées en valeurs lues sur le tambour de l'électrophotomètre de Meunier.

Pour les autres alcaloïdes, comme pour le chlorhydrate d'harminé, nous avons établi les courbes traduisant l'influence de diverses concentrations de ces produits sur le développement de Staphylococcus aureus.

L'examen de ces résultats plus apparents sur les courbes que dans

les tableaux, nous permet de constater que si certains alcaloïdes ne possèdent pas une action vraiment bactériostatique qu'à une concentration relativement élevée, ces mêmes substances sont cependant capables à des concentrations 10 ou 20 fois plus faibles, de ralentir encore nettement le développement de la culture.

Seconde série d'essais -

Etude des concentrations comprises entre 1.000 γ et 0,1 γ par litre.

Nous avons utilisé pour cette seconde série d'essais des solutions alcaloïdiques titrant de 1 pour 100.000 à 1 pour 1 milliard et nous avons mis en expérience des volumes amenant dans le milieu d'essai les concentrations suivantes : 1.000 - 750 - 500 - 400 - 200 - 100 - 75 - 50 - 25 - 10 - 5 - 1 - 0,50 - 0, 1 γ par litre.

Les cultures ont étéensemencées dans les mêmes conditions que pour les précédents essais et étudiées après les mêmes temps d'incubation.

Nous donnons ci-dessous les résultats des lectures. Nous n'avons pas traduit ces résultats par des courbes ; en effet, nous verrons que les différentes concentrations étudiées ne modifient pas ou peu les résultats obtenus et de cette façon toutes les courbes se confondraient plus ou moins avec celle du témoin.

TABLEAU N° 46

Dilutions finales de l'alcaloïde en γ par litre :	1000	750	500	400	200	100	75	50	25	10	5	1	0,5	0,1	0
Temps d'incubation en heures :	Opacités correspondantes (valeurs lues à l'électrophotomètre.														Témoin
5 heures	6	6	5	9	4	6	6	8	6	10	9	6	3	6	10
7 -	54	50	47	60	37	67	58	62	57	65	61	57	50	52	62
9 -	120	116	118	133	107	147	134	143	131	141	145	133	127	126	137
15 -	385	382	385	392	375	389	384	385	378	388	385	386	373	375	388
18 -	437	441	443	451	435	443	445	442	440	440	450	443	432	437	446
23 -	470	465	459	460	470	459	468	462	458	475	465	472	455	469	472
24 -	475	470	465	464	478	466	480	467	464	480	471	481	458	479	477
27 -	483	478	483	472	488	469	486	471	472	477	477	493	458	469	480
32 -	470	470	480	470	488	467	480	467	468	470	479	485	455	484	477
39 -	470	465	475	465	486	460	470	460	471	470	471	480	455	480	472
48 -	464	457	469	446	476	456	461	451	451	451	465	475	432	470	453

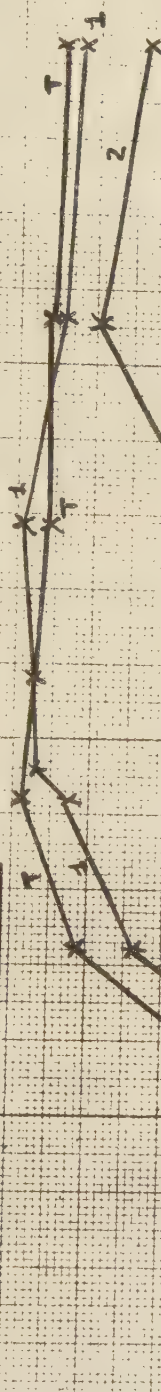
Nous voyons, d'après ce tableau, qu'en diminuant les concentrations d'alcaloïde nous obtenons, aux erreurs d'expérimentation près, des développements identiques à celui du témoin, mais nous n'observons jamais la stimulation de la culture que nous recherchons.

Courbe n° 2

Influence du chlorhydrate d'harmaline sur la culture de

Staphylococcus aureus

Volumen des a l'électrophorèse



Courbe n°1 0,005 g. par litre
n°2 0,05 g.
n°3 0,10 g.
T témoin

Heures



Nous avons étudié, dans les mêmes conditions qu'avec le chlorhydrate d'harminé, l'influence sur le développement du staphylocoque des substances suivantes aux concentrations ci-dessous indiquées :

Phénol et quinosol pris comme témoins.

Chlorhydrate de cocaïne_____ (de 10 g. à 1×10^{-10} g. par litre)

Chlorhydrate de morphine_____ (de 5 g. à 1×10^{-10} g. par litre)

Xanthofagarine (base)_____ (de 5×10^{-4} à 1×10^{-12} g. par litre)

Sulfate de berberine_____ (de 1×10^{-4} à 1×10^{-12} g. par litre)

Chlorhydrate d'émétine_____ (de 3×10^{-4} à 1×10^{-13} g. par litre)

Chlorhydrate de quinine_____ (de 1×10^{-3} à 1×10^{-10} g. par litre)

Sulfate de strychnine_____ (de 2×10^{-5} à 1×10^{-12} g. par litre)

Caféine_____ (de 1 g. à 1×10^{-7} g. par litre)

Sulfate d'atropine_____ (de 1×10^{-5} à 1×10^{-8} g. par litre)

Chlorhydrate de cépharantine_____ (de 2×10^{-5} à 2×10^{-9} g. par litre).

Au cours de l'étude de ces différents produits nous avons observé qu'en diminuant les concentrations des produits alcaloïdiques nous obtenions un développement un peu moins intense que celui de la culture témoin, mais nous n'avons jamais observé la stimulation de la culture que nous recherchions. Les doses infinitésimales mises en jeu n'agissaient plus aucunement sur les germes : à des concentrations de l'ordre de 1/1.000 de γ par litre les alcaloïdes ne favorisent en aucune façon le développement du Staphylocoque.

CONCLUSION - Notre recherche d'une éventuelle action stimulante exercée par les alcaloïdes sur les bactéries s'est montrée négative. Aucun des produits que nous avons essayés, agissant à de très petites doses, n'a permis d'obtenir un développement accéléré de Staphylococcus aureus, dans les conditions de l'essai. Cependant ce travail nous a permis d'observer un certain nombre de faits qu'il nous semble devoir signaler :

Nous avons établi les courbes d'action de quelques alcaloïdes et simultanément de deux substances antiseptiques (phénol et quinosol). Il nous paraît intéressant de faire remarquer que l'action du phénol, comme celui du quinosol, apparaît brusquement, quand on fait agir des doses de plus en plus fortes de ces antiseptiques.

Nous voyons, par exemple, qu'avec 1 gramme de phénol par litre la courbe de croissance du Staphylocoque s'éloigne peu de celle du témoin

tandis, qu'avec 1,50 gramme par litre aucun développement n'apparaît.

De même, si nous observons la courbe obtenue avec le quinosol nous voyons qu'à une concentration de 0,001 gramme par litre, ce produit agit peu sur la croissance du Staphylocoque tandis qu'une concentration de 0,005 gramme par litre arrête définitivement la croissance de cette bactérie.

Au contraire si nous examinons les courbes traduisant la croissance du Staphylocoque en présence de chlorhydrate d'harmine, nous voyons que si 0,005 gramme par litre n'a qu'une action très faible sur le développement de la bactérie, 0,05 gramme par litre ralentit déjà d'une façon importante cette croissance dont la phase de latence est prolongée 18 heures. 0,10 gramme arrête totalement le développement microbien.

On peut faire la même remarque en examinant successivement les courbes de croissance du Staphylocoque en présence de xanthofagarine, de chlorhydrate de cocaïne, de sulfate de berberine, de chlorhydrate de quinine, de chlorhydrate d'émétine. Nous obtenons avec chacun de ces produits une série de courbes plus ou moins parallèles, mais qui se trouvent déplacées latéralement par suite de l'augmentation de la phase de latence.

La présence de l'alcaloïde dans le milieu de culture prolonge la phase de latence ; mais dès que la culture apparaît, la phase logarithmique est à peu près aussi rapide que dans le milieu exempt d'alcaloïde et le maximum d'opacité atteint presque toujours la même valeur ou une valeur peu inférieure.

Ces observations laisseraient supposer que le mode d'action des alcaloïdes n'est pas le même que celui du phénol ou du quinosol.

E.CHAIN et H.W.FLOREY (10) ont divisé les substances antibiotiques en deux groupes d'après leur mode d'action :

- 1/ les antibiotiques qui réagissent avec les constituants protoplasmiques et tuent à la fois les cellules bactériennes et animales. Leur action est comparable, disent les auteurs, à celle des "antiseptiques".
- 2/ les antibiotiques qui réagissent avec des substances ayant une importance spéciale pour la cellule bactérienne. Quelques-unes de ces substances sont fortement inhibitrices de croissance et peuvent être appelées "bactériostatiques".

Le mode d'action des alcaloïdes se rapprocherait de celui des antibiotiques de ce deuxième groupe, tandis que le phénol et le quinosol agiraient comme des toxiques sur les constituants protoplasmiques.

Plusieurs auteurs ont signalé l'action des alcaloïdes sur la respiration des cellules bactériennes et des cellules levures.

Citons P.BERNOUILLI (3) qui, dans son étude de l'action de l'émétine, note qu'une faible dilution de cet alcaloïde ralentit la croissance et inhibe nettement la respiration bactérienne.

G.H.JOHNSON et I.LEWIN (23) étudient la quinine et observent l'action

antagoniste de la riboflavine et de la cozymase. Il semble, disent les auteurs, que la quinine forme une combinaison avec la cozymase du milieu.

P.MASCHERPA et M.CITRONI (37) ont signalé l'action de la morphine sur la respiration et la glycdyso de Saccharomyces elipsodaeus.

B.E.RYMAN et E.O.F.WALSH (44) se sont intéressé au mode d'action de la cocaïne sur un Saccharomyces, ces auteurs notent qu'aux doses suffisantes pour arrêter le développement, l'alcaloïde inhibe complètement le système de carboxylase du Saccharomyces.

D.BACH (2), poursuivant son étude sur le mécanisme de l'action antiseptique des acides organiques sur quelques bactéries, rappelle que la première explication donnée à l'action de ces produits est la toxicité de l'ion H et qu'un acide est d'autant plus toxique qu'il met plus d'ions H en liberté, c'est-à-dire qu'il est plus dissocié : l'activité est proportionnelle à la constante de dissociation.

Nous avons recherché si les produits alcaloïdiques étaient susceptibles de faire varier le pH du milieu de culture et si cette variation était suffisante pour empêcher le développement microbien. Les résultats de nos recherches nous permettent de conclure que les variations de pH du milieu de culture quand elles se manifestent, sont si faibles qu'elles ne peuvent suffire à empêcher le développement des germes. Le milieu de culture à l'autolysat de levure est bien tamponné et l'addition d'une solution de sel d'alcaloïde plus ou moins acide, n'exerce que peu ou pas d'influence sur son pH.

S.A.WACKSMAN (59) signale que l'action de certaines substances consiste à priver les bactéries de l'usage des enzymes ou des métabolites par différents modes d'interférence. Quand les organismes sont ainsi inhibés, leurs besoins nutritifs sont plus exigeants que dans l'état normal.

Il nous paraît intéressant de rappeler ici que les concentrations de produits alcaloïdiques nécessaires pour arrêter le développement microbien dans le milieu à l'hydrolysate de caséine sont, en général, plus faibles que celles qui sont indispensables pour obtenir la même action dans le milieu à l'autolysat de levure. Ce dernier milieu étant plus riche en facteurs de croissance.

C.J.CAVALLITO, J.M.BAILEY, T.MASKELL, J.M.CORNICK et F.W.WERNER (9) ont étudié l'inactivation des agents antibactériens et leur mécanisme d'action. Ils montrent que certaines substances telles que le chlorure mercurique, réagissent avec le groupement sulfhydryle de certaines enzymes qui deviennent inutilisables pour les bactéries. Ces produits se trouvent inactivés par addition de cystéine ou autre composés à groupe sulfhydryle.

J.NORDMANN, A.JUDE, R.NORDMANN, P.SERVANT, O.GAUCHERY et P.GIRARD (40) ont étudié l'action de certains inhibiteurs sur l'activité enzymatique bactérienne et ont observé l'effet du thiomalate de sodium sur les deshydrogénases bactériennes inhibées par des dérivés mercuriels et arsenicaux. Les bactéries en bactériostase puis réactivées conservent, d'après ces auteurs, leur virulence.

Enfin, BONET-MAURY (5), étudiant le développement du Staphylocoque en

présence de sulfamide, de pénicilline ou de streptomycine, a établi des courbes montrant le mode d'action de ces produits sur le développement de ce germe. D'après les courbes que nous avons nous-même établies pour étudier la croissance du Staphylocoque en présence d'alcaloïde, nous voyons que l'action de ces produits se rapprocherait plutôt de celle des sulfamides.

Notre intention est de poursuivre plus tard l'étude du mode d'action des alcaloïdes pour lesquels nous avons observé une certaine action bactériostatique et de rechercher, en particulier, si ces produits agissent sur la respiration microbienne.

Valours lues à l'électrophorèse

Courbe n° 3

Influence du phénol sur
la culture de Staphylococcus aureus

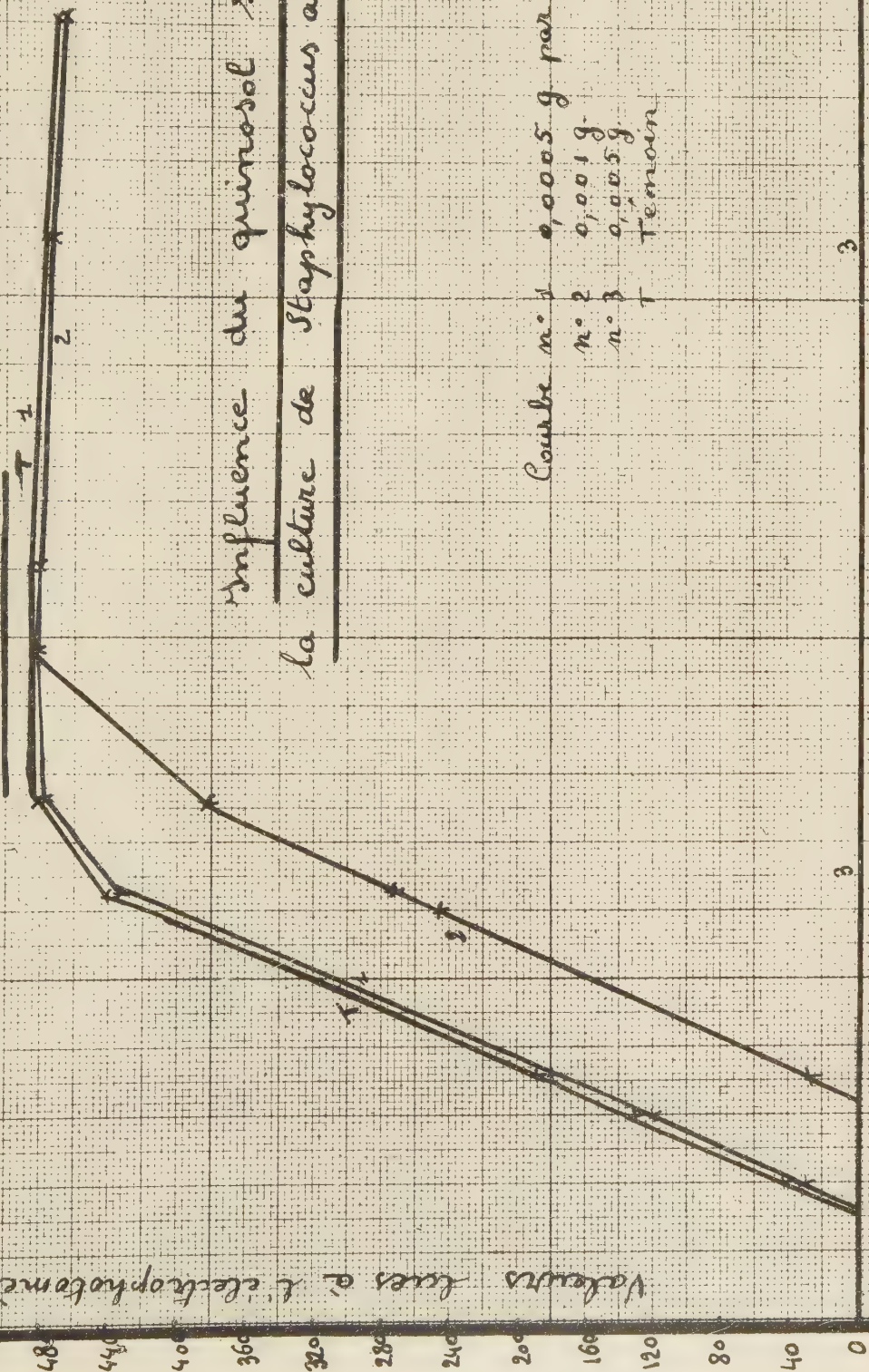
Courbe n° 1 0,25 g. par litre
n° 2 0,50 g.
n° 3 1 g.
n° 4 1,50 g.
T Temoin

Heures

Courbe n° 4

Influence du quinosol sur
la culture de Staphylococcus aureus

Valeurs lues à l'électrophotométrie

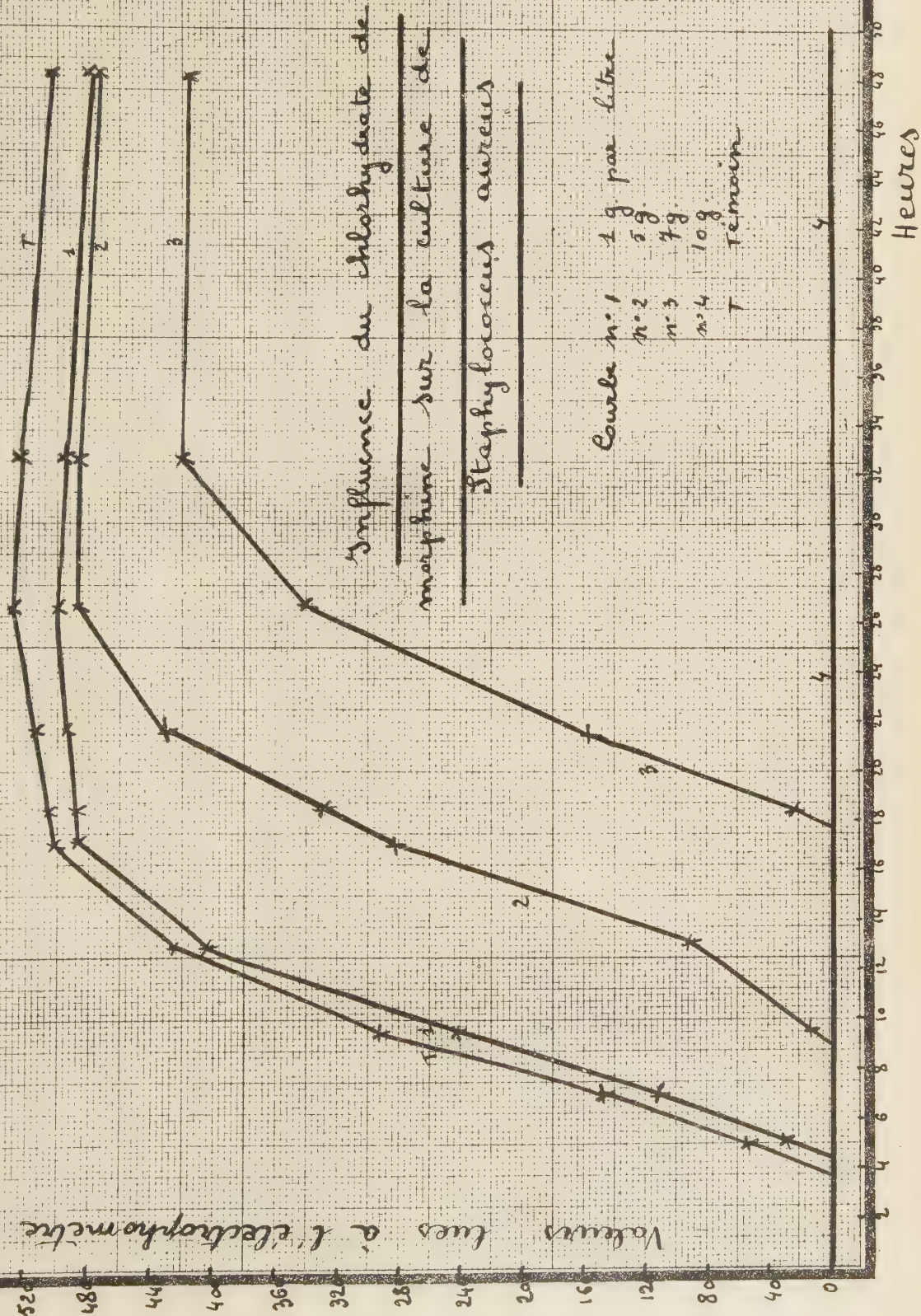


Courbe n° 1 0,0005 g par litre
n° 2 0,001 g
n° 3 0,005 g
Temoin

Heures

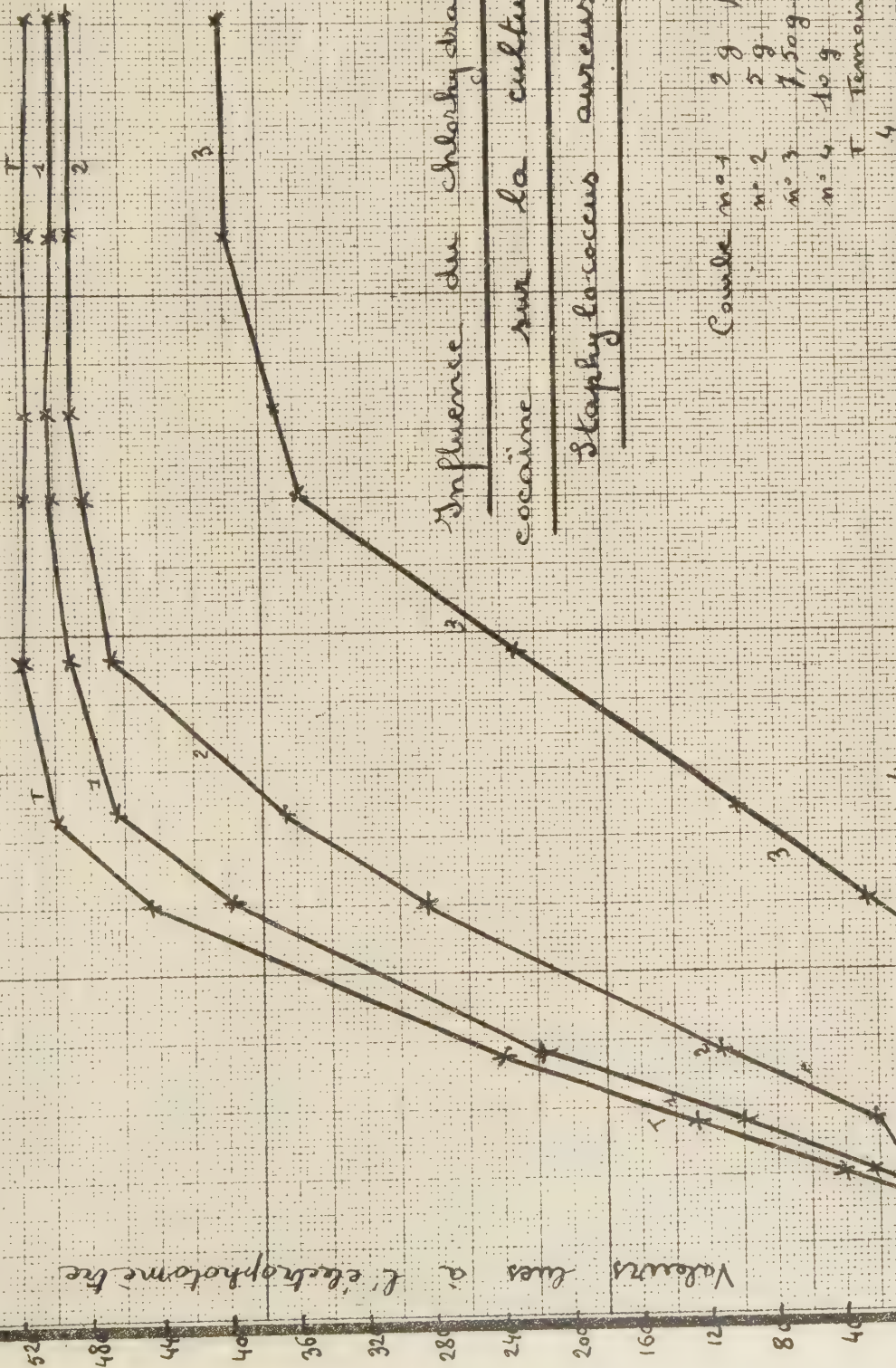
Courbe n° 5

Valeurs lues à l'électrophorométrie



Courbe n° 6

Volours dues à l'électrophorèse



Influence du chlorhydrate de cocaïne sur la culture de Staphylococcus aureus

Courbe n° 1 2 g par litre
n° 2 5 g
n° 3 7,5 g
n° 4 10 g
T Témoin

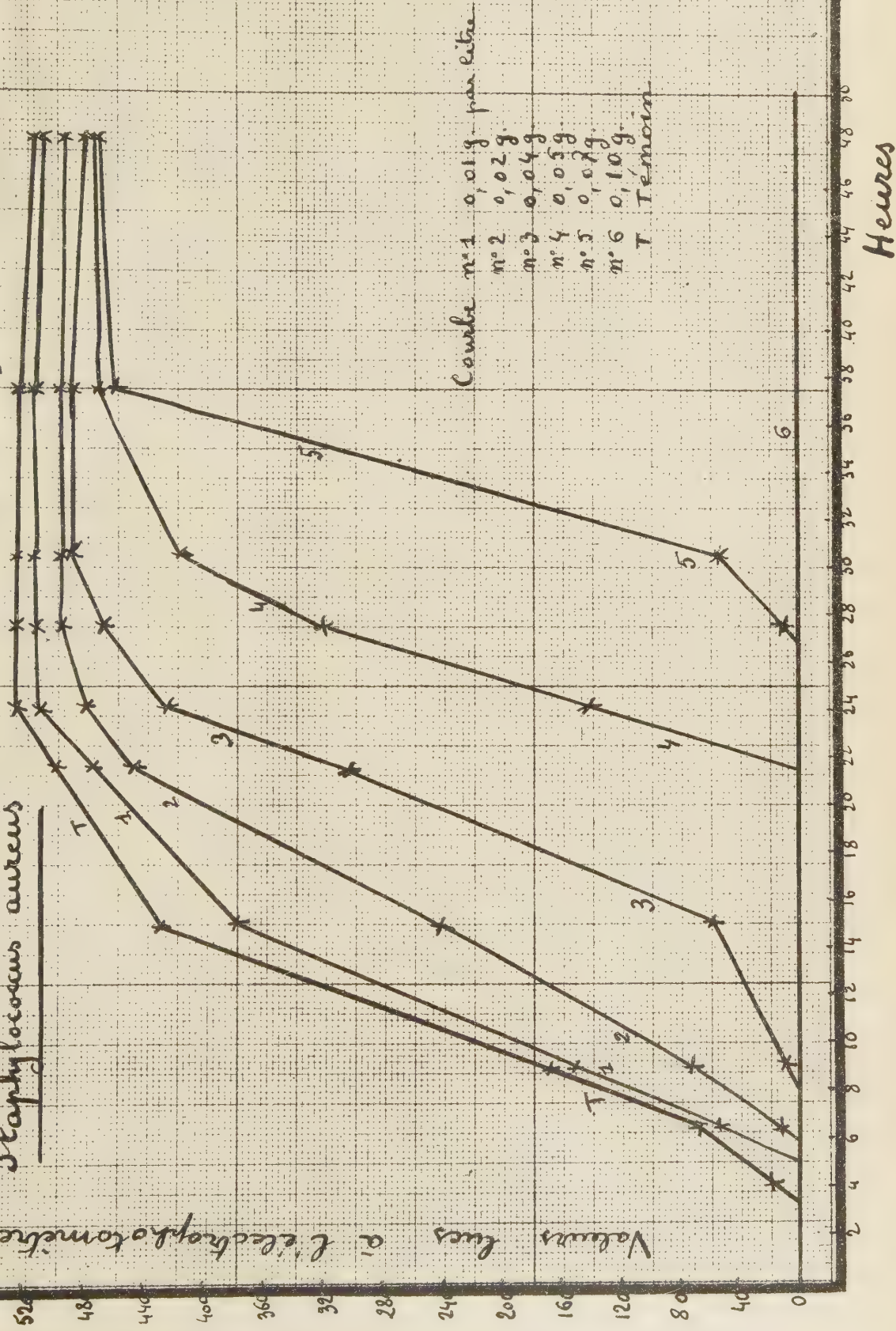
Heures

Courbe n° 7

Influence du sulfate de berbérine sur la culture de

Staphylococcus aureus

Valours lues à l'électrophorométrie



Heures

Courbe n° 8

Influence de la xanthopurine sur la culture de

Staphylococcus aureus

Valours lues à l'electrophotométrie

Courbe n° 1 0,001 g par litre

n° 2 0,005 g.

n° 3 0,01 g.

n° 4 0,02 g.

T Témoin

4

4

Heures

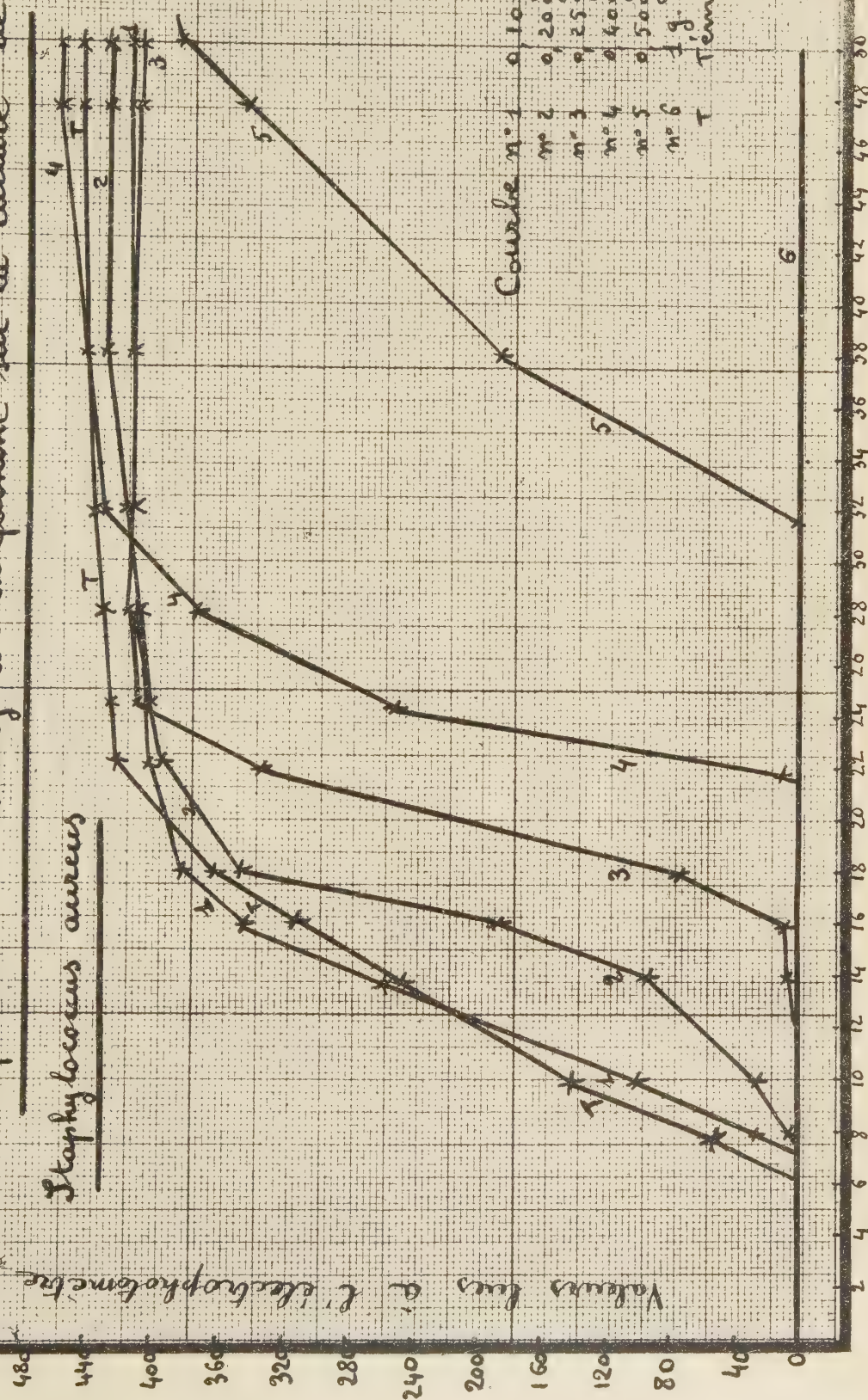


Courbe n° 9

Influence du chlorhydrate de quinine sur la culture de

Staphylococcus aureus

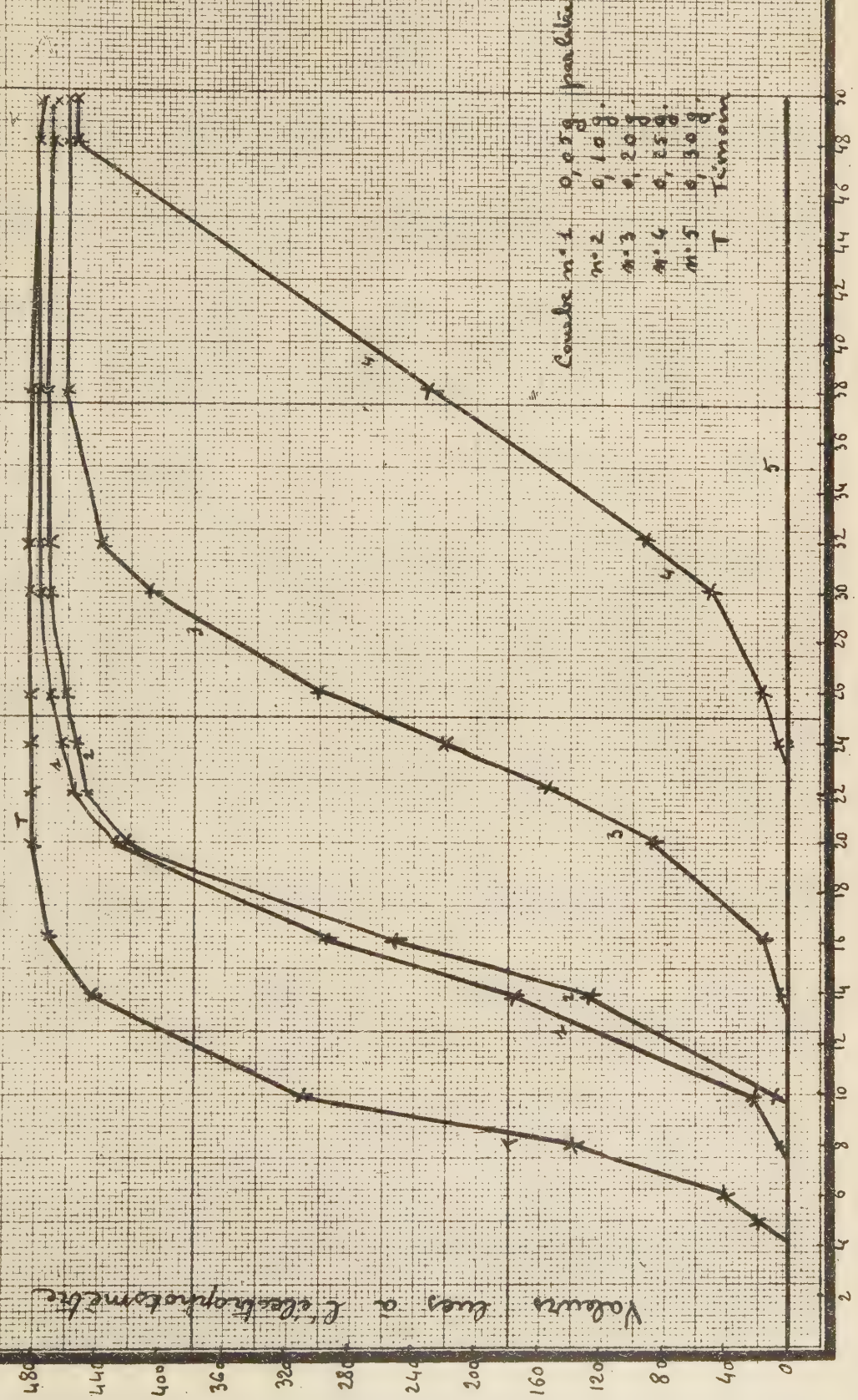
Valours lues à l'électrophorétype



Heures

Courbe n° 10

Influence du chlorhydrate d'émetine sur la culture de Staphylococcus aureus



Conc. m. l. 0, 0, 2 g. par litre
 m. 2 0, 10 g.
 m. 3 0, 20 g.
 m. 4 0, 25 g.
 m. 5 0, 30 g.
 T. Temps

Heures

C - ACTION DES ALCALOÏDES SUR LA MORPHOLOGIE DE QUELQUES BACTERIES

L'altération des bactéries sous l'influence de substances antibiotiques a été signalée par divers auteurs.

R.EMMERICH et Dr.SAIDA (17) sont les premiers à avoir observé les modifications morphologiques que subit la bactérie du charbon sous l'action de la pyocyanase.

S.A.WACKSMAN (59) signale que, sous l'action des substances antibiotiques produites par des actinomycètes, la division cellulaire de Bacillus mycoides est retardée en même temps que les cellules s'allongent, atteignent une dimension énorme et prennent des formes particulières.

Depuis quelques années l'action de la pénicilline sur la morphologie des bactéries a été constatée :

A.D.GARDNER (19) signale que cet antibiotique à dose inférieure à celle produisant l'inhibition complète du développement de Clostridium Welchii, en milieu liquide, détermine un changement de la morphologie. Les cellules s'allongent, donnent naissance à des filaments non segmentés, de dix à vingt fois plus longs que les cellules normales. La même constatation a pu être faite avec de nombreuses autres bactéries. Le développement des cellules n'est plus accompagné de division cellulaire et le noyau continuant à se développer, on assiste à la formation de cellules géantes dans lesquelles la proportion des nucléotides se trouve augmentée. L'auteur ajoute que si l'on fait agir une de ces substances sur une suspension de bactéries entièrement développées, il n'y a aucune action. Le produit n'agit que sur les cellules en voie de reproduction.

L'action de la pénicilline sur la morphologie est également signalée par R.TULASNE et R.VENDRELY (55), R.TULASNE et R.MINCK (53), A.J.SHANAHAN et F.W.TANNER (46), L.DIENES (15).

R.TULASNE, R.MINCK et A.MINCK (54), étudiant l'action de divers facteurs (température, pH, urée, colchicine, etc...) sur la structure cytoplasmique des Colibacilles, signalent que la colchicine n'a pas d'influence notable.

Les mêmes auteurs signalent, l'année suivante, l'apparition de formes géantes des bactéries en présence de pénicilline. "Notons, disent ces auteurs, que la pénicilline est loin d'avoir le monopole d'une particulière action. Les rayons X et, aussi, des réactifs chimiques fort divers (sels, urée, etc...) peuvent conduire à des résultats du même ordre, avec toutefois cette particularité que les effets obtenus se montrent extrêmement variables d'un réactif et d'une espèce bactérienne à l'autre. Dans tous les cas, poursuivent les auteurs, il apparaît qu'on se trouve en présence d'un retard des divisions cytoplasmiques sur les divisions nucléaires, amenant une accumulation des noyaux et même une multiplication sur place de la matière nucléaire".

L'action de la streptomycine est étudiée par C.LIEVADITI et J.HENRY (31)

qui signalent l'apparition de formes géantes chez certaines bactéries qui prennent moins nettement la coloration que les bactéries non traitées.

C.LEVADITI, A.VAISMAN et J.HENRY-EVENO (32) étudiant, au moyen du microscope à contraste de phase, l'action de la chloromycétine sur Eberthella typhosa, signalent que cet antibiotique modifie peu la morphologie et les propriétés tinctoriales du Bacille d'Eberth et que ces modifications sont beaucoup moins intenses que celles provoquées par la pénicilline ou la streptomycine.

M.WELSH, E.NIHOUL et C.DELEMENNE-JAMINON (60). étudient l'action de différentes substances antibiotiques sur la morphologie des bactéries.

A.DESVIGNES (14) signale qu'en présence d'iode, de phénol ou de chlorure mercurique, la morphologie des bactéries est en général beaucoup moins modifiée qu'en présence de pénicilline ou de streptomycine.

Nous avons déjà noté que V.SOITUZ (48) avait, le premier, signalé les modifications que subissent les bactéries en présence d'alcaloïde, et qui rappellent celles des microbes cultivés dans de mauvaises conditions.

Nous donnerons maintenant les résultats de nos recherches personnelles.

Pour ce travail nous avons opéré de la manière suivante.

Au cours de nos essais, réalisés par la méthode des dilutions, nous avons effectué des étalements sur lames de cultures âgées de trois jours, prélevées dans les premiers tubes de chaque série ; ces cultures développées en présence de doses subbactériostatiques d'alcaloïde, s'étaient généralement développées avec un certain retard. Ces étalements, après fixation à l'alcool-éther, ont été colorés par la méthode de Gram et examinés au microscope avec un objectif à immersion 1/15 et un oculaire N°4.

Nous avons effectué nos essais sur cinq bactéries parmi celles que nous avons précédemment mises en expérience :

<u>Staphylococcus aureus</u>	(souche +)
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	(souche 1)
<u>Escherichia coli</u>	(souche Samet)
<u>Bacillus mesentericus vulgatus</u>	(souche 100)
<u>Bacillus proteus X 19</u>	(souche A)

RESULTATS -

Nos recherches nous permettent de conclure que peu d'alcaloïde agissent sur la morphologie des bactéries. Cependant ceux qui agissent le font comme les substances antibiotiques en général, c'est-à-dire en faisant prendre aux bactéries des formes géantes. Signalons quelques résultats remarquables observés avec chacune des bactéries mises en expérience.

STAPHYLOCOQUE -

Peu d'alcaloïdes agissent sur la morphologie du Staphylocoque. Cependant nous avons observé l'apparition de quelques cocci plus volumineux que les cocci non traités ; en particulier, en présence de scurocaïne (10 g. par litre) ou de sulfate d'hyosciamine (7 g. par litre), les bactéries se sont souvent trouvées groupées en diplocoques. En présence de phénylbutyrate de novocaïne nous avons observé de courtes chaînettes de trois ou quatre cocci un peu plus volumineux que les cocci normaux. Il en est de même en présence de chlorhydrate d'harmine (0,20 g. par litre).

Staphylocoque en présence de doses subbactériostatiques de :



chlorhydrate d'harmine



Sulfate d'hyosciamine



Scurocaïne



Témoin

B. PYOCYANIQUE -

Les alcaloïdes que nous avons étudiés n'exerçaient qu'une faible action bactériostatique sur le Bacille pyocyanique en général et, cependant, certains ont agi nettement sur sa morphologie. En présence d'éphédrine, nous avons observé l'apparition de cellules géantes de 5 à 10 fois plus grandes que les cellules normales pour une concentration de 5 grammes par litre, mais ceci très irrégulièrement.

Nous avons observé la présence de quelques filaments parmi les éléments normaux avec la colchicine, la dionine et l'atropine.

La stovaïne, par contre, fait prendre aux bacilles une forme trapue presque coccobacillaire. Il en est de même en présence de chlorhydrate de lobéline (1 g. par litre).

B. pyocyanique en présence de doses subbactériostatiques de :



Stovaïne
(4 g. par litre)



Ephédrine
(5 g. par litre)



Témoin

COLIBACILLE -

Quelques alcaloïdes, parmi ceux que nous avons étudiés, ont agi sur la morphologie du Colibacille en lui donnant une forme filamenteuse. Citons la lobéline (1 g. par litre), l'aconitine (4 g. par litre), l'atropine (10 g. par litre), l'héroïne (9 g. par litre) et le phénylbutyrate de novocaïne (8 g. par litre).

Dans un milieu renfermant du chlorhydrate d'harmine à dose insuffisante pour arrêter son développement (0,20 g.par litre) le Colibacille se présente en navette, quelquefois en file de deux ou trois éléments, ceux-ci se trouvant associés à des éléments normaux.

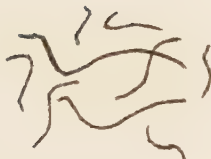
Colibacille en présence de doses subbactériostatiques de :



Lobéline



Chlorhydrate d'harmine



Sulfate d'hyosciamine



Témoin

BACILLE MESENTERICUS -

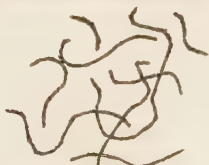
C'est le bacille qui a été le plus influencé par la présence d'alcaloïde dans le milieu de culture ; nous avons pu noter, de façon constante, l'apparition de formes filamenteuses plus ou moins longues et enchevêtrées.

La morphine, la quinine, la narcotine, la lobéline et le phénylbutyrate de novocaïne ont été à peu près les seules substances à ne pas agir sur la morphologie de ce bacille.

Avec les autres alcaloïdes, nous avons observé toutes les formes intermédiaires entre la forme normale et les formes filamenteuses enchevêtrées.

La culture de Bacillus mesentericus en présence d'héroïne (10 g.par litre) présente un aspect très spécial. Lorsque le prélèvement est fait sous le voile, les bacilles se présentent en filaments de longueur très irrégulière, au milieu de bacilles de taille normale mais disposés en chaînes. Lorsque le prélèvement est effectué dans le voile, les bacilles de taille assez grande mais non filamenteux, sont contournés et ramassés sur eux-mêmes, ce qui leur donne un aspect vermiculé.

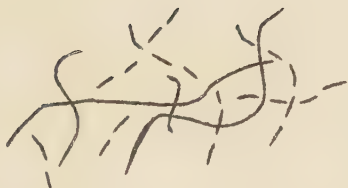
Bacille mesentericus en présence de doses subbactériostatiques de :



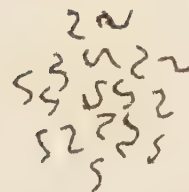
Sulfate de spartéine
(10 g. par litre)



Benzoate de novocaïne
(10 g.par litre)



Prélèvement sous le voile, héroïne
(10 g. par litre)



dans le voile



Témoin

BACILLE PROTEUS -

En général le Bacille proteus garde une morphologie normale lorsqu'il est cultivé en présence d'alcaloïde. Quelques exceptions cependant sont à signaler : l'apparition de quelques filaments en présence de caféine (8 g. par litre), l'épaississement des bacilles qui gardent une longueur normale en présence de sulfate de spartéine ; la coloration irrégulière donnant un aspect granuleux au bacille en présence de chlorhydrate d'harmine (0,20 g. par litre).

Bacille proteus en présence de doses subbactériostatiques de :



Chlorhydrate d'harmine



Caféine



Témoin

C O N C L U S I O N

Résumons brièvement les résultats que nous avons obtenus au cours de notre étude de l'action des alcaloïdes sur quelques bactéries :

Nous avons tout d'abord rappelé les différents travaux qui ont été effectués à ce sujet, nous avons vu que les conditions d'expérience n'avaient malheureusement pas toujours été précisées, ce qui entraînait une certaine variation dans les résultats obtenus par les divers auteurs.

Cette constatation nous a amenée à rechercher l'influence des différents facteurs de l'essai sur les résultats qu'il fournit. Nous avons déterminé les doses antigénétiques de quelques substances à l'égard de Staphylococcus aureus, en conditions variables ; ces variables étant : la méthode d'essai adoptée, le milieu de culture, le nombre de germes mis en expérience, la forme et la dimension des récipients de culture. Les résultats obtenus nous montrent que chacun de ces facteurs influence plus ou moins les résultats des essais et qu'il est par conséquent indispensable de les fixer avec précision. Nous avons indiqué les conditions que nous avons adoptées pour nos recherches.

La majeure partie de notre travail a ensuite consisté à déterminer l'activité bactériostatique des produits alcaloïdiques. Nous avons indiqué nos résultats pour chaque alcaloïde, ceux-ci étant groupés d'après leur constitution chimique, et ensuite pour chaque bactérie mise en expérience. Nous avons vu que si la plupart d'entre eux ne sont pas ou sont peu actifs sur les bactéries, quelques-uns cependant possèdent une certaine action. Citons pour mémoire : le chlorhydrate d'apomorphine, le chlorhydrate d'harmine, le nitrate de sanguinarine, le chlorhydrate de cépharanthine, l'acétate d'isotétrandrine, le chlorhydrate d'ibogaïne, la xanthofagarine, le sulfate de berberine et le chlorhydrate de quinine. Quelques-uns de ceux-ci possèdent une activité qui n'est pas tellement éloignée de celle des antibiotiques actuels. Citons, par exemple la xanthofagarine dont la dose bactériostatique sur le Bacille mesentericus est de 0,035 gramme par litre, soit 35 μ par centimètre cube ; le chlorhydrate d'apomorphine inhibe le développement du Bacille dysentérique de Shiga à la même concentration de 0,035 gramme par litre, ou 35 μ par centimètre cube ; le Staphylocoque est inhibé par le chlorhydrate d'apomorphine à la concentration de 0,045 gramme par litre, soit 45 μ par centimètre cube. Rappelons que l'action de la pénicilline sur le Staphylocoque est de l'ordre de 0 γ 20 par centimètre cube en 18 h. A une concentration de 25 milligrammes par litre le chlorhydrate d'harmine inhibe le développement de Mycobacterium tuberculosis tandis qu'il faut 6,5 milligrammes par litre d'isoniazide pour obtenir le même résultat.

Pour certains produits, nous avons donné en détail les résultats obtenus pour les différentes concentrations mises en expérience, afin de faire ressortir que l'action de ces alcaloïdes sur les bactéries se manifeste par un ralentissement du développement microbien qui n'est pas toujours inhibé totalement. Ce fait a été mis en évidence de façon encore plus nette dans les courbes que nous avons tracées pour traduire la croissance de Staphylococcus aureus en présence de certains alcaloïdes. Ces courbes mettent en évidence l'augmentation de la phase de latence pour certaines doses de principe actif. Nous avons signalé que ces faits pourraient nous aider à déter-

miner le mode d'action des alcaloïdes sur les bactéries, recherche que nous avons l'intention de poursuivre.

En groupant les alcaloïdes d'après leur constitution chimique nous espérons mettre en évidence un groupe particulièrement actif sur les bactéries. D'après les résultats obtenus nous voyons que chaque série nous procure à la fois des produits absolument inactifs et d'autres, au contraire, doués d'une action bactériostatique très nette. Cependant nous pouvons rattacher les alcaloïdes les plus actifs à cinq groupes : groupes des alcaloïdes à noyau quinoléique et à noyau isoquinoléique, groupes à noyau phénanthréinique et de la naphthophénanthridine et groupe à noyau indolique.

Nous avons mis en expérience un certain nombre de bactéries choisies pour leurs affinités tinctoriales différentes. D'après les résultats que nous avons obtenus, le Bacille pyocyanique est celui qui est le moins influencé par la présence d'alcaloïde dans le milieu de culture, fait qui se manifeste également avec les substances antibiotiques. Par contre, le Bacille mesentericus, malgré ses spores, résiste peu à l'action de ces produits.

En comparant les doses antigénétiques des alcaloïdes à celles du phénol et du quinosol, nous avons déterminé un "index phénolique" et un "index quinosolique". Nous avons constaté que certains alcaloïdes sont jusqu'à trente cinq fois plus actifs que le phénol, mais que, par contre, peu sont aussi actifs que le quinosol. Le chlorhydrate d'apomorphine, le chlorhydrate d'harmine et l'acétate d'isotétrandrine seuls exercent une action équivalente à celle du quinosol sur certaines bactéries seulement. Les autres produits sont loin de posséder une action aussi efficace que celle de cet antiseptique.

Nous pouvons ajouter que si les produits alcaloïdiques sont bactériostatiques, ils sont par contre peu bactéricides ou ne le sont qu'à très fortes concentrations.

Notre recherche d'une éventuelle action stimulante des alcaloïdes sur le développement du Staphylocoque s'est montrée négative. Dans les conditions où nous avons opéré aucun des produits mis en expérience à des dilutions très faibles de l'ordre de 1×10^{-12} g. par litre n'a permis d'obtenir un développement accéléré de ce germe.

Nous avons enfin recherché si la présence d'alcaloïde dans le milieu de culture faisait varier la morphologie de certaines bactéries. Nous avons constaté, sous l'influence de certains produits seulement, l'apparition de condensations protoplasmiques ou de formes géantes, fait qui a déjà été observé avec d'autres substances antiseptiques et antibiotiques.

Nous insisterons pour terminer sur le fait que, si peu d'alcaloïdes employés en thérapeutique courante, possèdent un pouvoir bactériostatique, certains cependant ont une action qui est loin d'être négligeable et qui rend inapplicable l'essai de stérilité des solutés injectables dans les conditions que définit actuellement la Pharmacopée française.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) AMAKO, T.H. Centralbl. f. Bakt. 1 Abt. Or. 1931 119 464
- (2) BACH, D. Bull. Sc.pharmacol. 1932 39 n°1
- (3) BERNOUILLI, P. Schweiz. Zeitschr. Allgem. Path. u. Bakt.
1944 7 525-534
- (4) BIELING, R. Biochem. Zeitsch. 1918, 85 188-211
- (5) BONET-MAURY, P. Ann. I.P. 1945 71 284 et 495
1946 72 135, 496 et 966.
- (6) BONETTI, E. et ILLENYI, A.
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1941-42, 148 114
- (7) BRIGANDAT, E. Thèse pharm. Montpellier 1891
- (8) BROWN, O.H. Proceed. Amer. Soc. of Biol. Chem.
mars 1912 36 in B.I.P. 1912 10 479
- (9) CAVALLITO, C.J., BAILEY J.M., MASKELL T. CORNICK J.M. et WERNER F.W.
J. of Bacteriol. 1945 50 61-69
- (10) CHAIN, E. et FLOREY, H.W.
Ann. Rep. Prog. Chem. 1943 40 180
- (11) CORPER, H.J., GAUSS, H. et REUSCH, O.B.
Amer. Rev. Tuberc. 1921-22 5 643
- (12) DAKIN, H. et DUNHAM, E. Manuel des Antiseptiques, 1918.
- (13) DAVIS, H. Quart. J.Pharmac. Pharmacol. 1935 8 361-69
- (14) DESVIGNES, A. Thèse doct. Paris 1952.
- (15) DIENES, L. J.of Bacteriol. 1949 57 529
- (16) DURAND, R. Thèse pharm. Nancy 1919.
- (17) EMMERICH, R. et SAIDA, DR.
Centralbl.f.Bakt. Abt. 1 Or.
1900 27 776-86
- (18) FALK, C.R., BIENIAZ BUCCA, H. et SIMMONS, M.P.
J. of Bacteriol. 1939 37 121
- (19) GARDNER, A.D. Nature 1940 146 837-38

- (20) GRASSET, J. Semaine médicale 1885 272
cité par HAIM et TORRES
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1927 102 96
- (21) HAIM, A. et TORRES. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1927 102 96
- (22) JENSEN, E. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1936 138 375
- (23) JOHNSON, F.H. et LEWIN, I. Science 1945 101 281-82
- (24) JOHNSON, C.C. et POE, C.F.
Acta pharmacol. et toxicol. 1948 4 265
JOHNSON, C.C., JOHNSON, G. et POE, C.F.
Acta pharmacol. et toxicol.
1949 5 222-30
1952 8 71
DROMMOND, F.G., JOHNSON, C.C. et POE, C.F.
Acta pharmacol. et toxicol.
1950 6 235
- (25) KARWACKI, L. et BIERNACKI, S.
Ann. I.P. 1925 39 476
- (26) KLOUMANN, F. Centralbl. f. Bakt. 1 Or. 1904 36 312
cité par HAIM et TORRES
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1927 102 96
- (27) KOLLE, W. et SCHLOSSBERGER, H.
Zeitschr. f. Hyg. 1923 100 107
- (28) LAMBIN, S. Thèse doct. sci. Masson édit. Paris 1933
- (29) LAMBIN, S. et ROBERT, M.
Ann. pharm. franç. 1951 2 103
- (30) LEBEAU, P. et COURTOIS, G.
Traité de pharm. chimique 1947 4
- (31) LEVADITI, C. et HENRY, J.
Revue d'immunol. 1948, 12 193
- (32) LEVADITI, C., VAISMAN, A. et HENRY-EVENO, J.
Presse Médicale 1950 58 665
- (33) LEVY, A.J. Amer. Rev. of Tuberc. 1931 23 733-39
- (34) LODE, A. et HOWARD, A.
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1932 124 538
- (35) LOESER, A. Zeitschr. f. Immunitätsf. 1 Or. 25 140-153
in B.I.P. 1917. 15 159

- | | | |
|------|---|--|
| (36) | LUBBERT | Biologische Spaltpilzuntersuchungen 1886
cité par HAIM et TORRES
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1927 <u>102</u> 96 |
| (37) | MASCHERPA, P. et CITRONI, M. | Presse Médicale 1952 <u>60</u> 7 |
| (38) | MORGENROTH, J. et TUGENDREICH, I. | Berlin. Klin. Woch. 1916 juil. 794
in B.I.P. 1917 <u>15</u> 159 |
| (39) | MORIN, M. | Presse médicale 1944 <u>13</u> 200 |
| (40) | NORDMANN, J. JUDE, A., NORDMANN, R., SERVANT, P., GAUCHERY, O.
et GIRARD, P. | Revue d'immunologie 1952 <u>3</u> 157 et 166
<u>4 - 5</u> 286 |
| (41) | OBATON, F. | C.R.Acad. Sci. 1939 <u>208</u> 1536 |
| (42) | PARIS, R. et GERMAN, A. | C.R.Acad.Sci. 1950 <u>230</u> 2345 |
| (43) | ROTH, E. | Arch. f. Hyg. Bd. <u>49</u> 1904 199
cité par HAIM et TORRES
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1927 <u>102</u> 96 |
| (44) | RYMAN, B.E. et WALSH, E.O.F. | Biochem. J. G.B. 1952 <u>50</u> 570-73 |
| (45) | SAVOLAINEN, T. | Thèse Helsinki 1948
in B.I.P. 1949 <u>47</u> 105 |
| (46) | SHANAHAN, A.J. et TANNER, F.W. | J. of Bacteriol. 1948 <u>55</u> 537 |
| (47) | SHU CHUNG LU et LAN TIEN HO | Trans.chin.Assoc. adv. Sci. 1947 <u>9</u>
in Prod.pharm. 1949 <u>4</u> |
| (48) | SOITUZ, V. | Rev. Path. comp. et Hyg. 1930 <u>30</u> 910 |
| (49) | SSADIKOW, W.S. | Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1911 <u>60</u> 417 |
| (50) | STICKL, O. | Zeitschr. f. Hyg. 1927-28 <u>108</u> 567
in B.I.P. 1929 <u>27</u> 773 |
| (51) | TISSEUIL, J. | Bull. Soc. path. exot. 1937 <u>30</u> n°8 634
in B.I.P. 1938 <u>36</u> 871 |
| (52) | TODD, J.P. et SMITH, H.L. | J. of the royal techn. Coll.
Janv. 1934 <u>2</u> Glasgow |
| (53) | TULASNE, R. et MINCK, R. | C.R. Acad. Sci. 1948 <u>226</u> 2186 |

- (54) TULASNE, R. MINCK, R. et MINCK, A.
C.R. Soc. biol. 1948 142 1014-16
C.R. Acad. Sci. 1949 228 1262
- (55) TULASNE, R. et VENDRELY, R.
Nature, 146 1940 837-38
- (56) VAINBERG, B. et KRASNOGOLOVEZ, V.
Z.Mikrobiol. 1938 21 n° 6 121-28
in Berichte über die Gesante
physiologie 1939 114 508
- (57) VIDEAU, D. Ann.pharm. franç. 1952 10 204
- (58) VINCENT, D. Prod. pharm. 1948 n° 3 396
- (59) WACKSMAN, S.A. Antagonismes microbiens et substances anti-
biotiques, 1948
- (60) WELSH, M. NIHOUL, E. et DELEMENNE-JAMINON, C.
C.R. Soc. biol. 1948 142 1452
- (61) ZIRPOLO, G. Chem. Centralb. 1920 3 747
cité par HAIM, A. et TORRES
Centralbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. 1927 102 96
-

T A B L E D E S M A T I E R E S

	<u>page</u>
<u>INTRODUCTION</u>	3
<u>ESSAIS PERSONNELS</u>	15
 <u>PREMIERE PARTIE :</u>	
Etude de l'action bactériostatique de quelques alcaloïdes.....	15
Influence des différents facteurs sur les résultats de l'essai.....	15
Conditions adoptées.....	23
Résultats obtenus avec les divers alcaloïdes:	
Groupe de l'arylamine.....	31
Groupe de la pyridine.....	32
Groupe du tropane.....	34
Groupe du Nor lupinane.....	37
Groupe de l'indol.....	37
Groupe de la quinoléine.....	44
Groupe de l'isoquinoléine.....	45
Groupe du phénanthrène.....	54
Groupe de la naphthophénanthridine.....	57
Groupe de la glyoxaline.....	58
Groupe de la purine.....	59
Groupe de la novocaïne.....	61
Alcaloïdes non sériés.....	62
Tableau récapitulatif des alcaloïdes les plus actifs.....	67
Résultats obtenus à l'égard des diverses espèces bactériennes, mises en expérience.....	69
Staphylocoque.....	70
Bacille pyocyanique.....	72
Colibacille.....	74
Bacille mesentericus.....	76
Bacille proteus.....	78
Bacille typhique.....	80
Pneumobacille.....	82
Bacille de Shiga.....	84
Comparaison avec l'activité du quinosol de celle des alcaloïdes les plus actifs.....	86
Application à l'essai de stérilité du Codex.....	88
Action bactériostatique à l'égard de Mycobacterium tuberculosis.....	91

DEUXIEME PARTIE :

Recherche de diverses autres activités des alcaloïdes sur les bactéries.....	97
A - Action bactéricide.....	98
B - Recherche d'une éventuelle action stimulante sur la croissance du Staphylocoque.....	99
C - Action sur la morphologie de quelques bactéries.....	109
<u>CONCLUSION</u>	115
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	117

Vu et approuvé :
Paris, le 16 Janvier 1953
LE DOYEN DE LA FACULTE DE PHARMACIE
R. FABRE

Vu et permis d'imprimer :
LE RECTEUR DE L'ACADEMIE DE PARIS
J. SARRAILH

